Die Kerntheilung

bei

Actinosphaerium Eichhorni.

Von

Dr. Richard Hertwig,
o. ö. Professor der Zoologie an der Universität Bonn.

Mit 2 lithographischen Tafeln.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1884.


WELLCOME
HISTORICAL MEDICAL LIBRARY


22900369420

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig,
o. Professor der Anatomie an der Universität
Jena.

und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität
Bonn.

Heft 1.

Die Kerntheilung

bei

Actinosphaerium Eichhorni.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1884.

Die Kerntheilung

bei

Actinosphaerium Eichhorni.

Von

Dr. Richard Hertwig,
o. ö. Professor der Zoologie an der Universität Bonn.

Mit 2 lithographischen Tafeln.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1884.

Als ich im November 1882 in den zoologischen Uebungen zu Königsberg den Bau von Actinosphaerium Eichhorni erläuterte, fiel mir an einem der zur Untersuchung verwandten Exemplare das eigenthümliche Aussehen einer Anzahl von Kernen auf. Bei näherer Prüfung zeigte es sich, dass die meisten Kerne des Thieres in Theilung begriffen waren, dass die Figuren, welche dabei entstehen, mehr als bei irgend einem anderen Protozoen an die Bilder erinnern, welche man bei der Theilung von Eizellen und Pflanzenzellen erhält, endlich dass Actinosphaerium Eichhorni vermöge seiner Durchsichtigkeit und seiner Lebenszähigkeit ein ganz aussergewöhnlich günstiges Object ist, um am lebenden Thier die Kerntheilung im Zusammenhang zu verfolgen. Durch diese Ergebnisse einer ersten und oberflächlichen Untersuchung wurde ich bestimmt, dem interessanten Object auch weiterhin meine Aufmerksamkeit zu widmen.

Die Beobachtung wurde mir durch den grossen Reichthum des mir zu Gebote stehenden Materials wesentlich erleichtert. In den Gräben, welche sich den Ufern des Pregels entlang durch die westlich von Königsberg gelegenen Wiesen ziehen, gehört das Actinosphaerium Eichhorni zu den häufigsten Vorkommnissen. In meinen Aquarien hatte ich Hunderte von Exemplaren, welche sich während des ganzen Winters lebend erhielten und sich in gleichem Maasse vermehrten, als ich sie zur Untersuchung aufbrauchte.

Die Kerntheilung ist ein Process, der im Allgemeinen selten bei unserem Rhizopoden einzutreten scheint und sich dann in

ziemlich rascher Aufeinanderfolge an den meisten Kernen des Thiers abspielt. Daraus erklärt es sich, dass er bisher nicht hat verfolgt werden können, trotzdem das Actinosphaerium wiederholt zum Gegenstand sehr eingehender Studien gemacht worden ist. Nur ganz neuerdings hat Gruber bei einem einzigen in Chromsäure abgetödteten Exemplar Kerntheilungsbilder gefunden und ist bei der Schilderung derselben und noch mehr bei ihrer Deutung zu Resultaten gekommen, welche wie ich weiter unten zeigen werde, in wichtigen Punkten von den meinigen sehr erheblich abweichen; aber auch seine Versuche, die mehr zufällig gemachten Beobachtungen durch Untersuchung weiteren Materials zu ergänzen, sind erfolglos geblieben, da es ihm nicht gelang, geeignete Stadien zu erhalten. Ich habe mich daher bemüht, ausfindig zu machen, ob nicht der Verlauf und das Eintreten der Theilung von äusseren Umständen beeinflusst würde, ob etwa die Vorgänge durch Belichtung oder auch umgekehrt durch Verdunkelung, durch Wärme oder Abkühlung ausgelöst oder durch gute Ernährung angeregt werden könnten. Ich bin dabei zu keinem Resultat gelangt mit Ausnahme des Einen, dass Kerntheilungen im Winter häufiger und leichter zu beobachten sind, als im Sommer. So blieb mir denn nichts Anderes übrig, als den mühsamen Weg wiederholter Beobachtung zahlreicher Exemplare einzuschlagen. Ich habe an manchen Tagen über 100 Thiere durchmustert, jedes einzelne zu wiederholten Malen in Zwischenräumen von 1—2 Stunden. Um diese Arbeit rasch durchführen zu können muss man die Thiere stark durch allmählige aber ausgiebige Compression abplatten und durchsichtig machen. Die Actinosphaerien vertragen diese Behandlung, wenn sie vorsichtig durchgeführt wird, ganz ausgezeichnet, man kann zu wiederholten Malen dasselbe Exemplar so sehr abplatten, dass seine Dicke nicht grösser ist als der Durchmesser eines Kernes, dass jeder Kern somit untersucht werden kann, ohne dass eine erheblichere über ihn gelegene Protoplasmalage das Bild trübt. Man erreicht das am leichtesten mittelst eines Verfahrens, welches sich überhaupt bei der Untersuchung kleiner und zarter Objecte sehr empfiehlt und ganz besonders auch zum Unterricht in den zoologischen Uebungen geeignet ist. Man bedeckt das Object mit einem Deckgläschen mit Wachsfüsschen, drückt dann mit einer heissen Nadel abwechselnd auf die einzelnen Füsschen, wodurch der schmelzende Wachstropfen abgeplattet wird, bis die nöthige Dünnheit der Wachsschicht er-

reicht ist. Wenn man sich einmal ein solches zu stärkster Compression geeignetes Deckgläschen zubereitet hat, kann man es auch direct gebrauchen, nur muss man es vorsichtig auflegen und einen grossen Wassertropfen anwenden, welcher das Deckgläschen balancirt. Der nöthige Grad der Compression wird dann dadurch, dass man einen Theil des Wassers durch Fliesspapier entfernt, herbeigeführt.

Durch Anwendung des geschilderten Verfahrens habe ich etwa 40 Actinosphaerien mit Kerntheilung in den Monaten November und December 1882 und Januar 1883 aufgefunden. Dieses relativ reiche Material hat es mir möglich gemacht, zu wiederholten Malen die Kerntheilung von Anfang bis zu Ende am lebenden Thiere zu verfolgen, sowie auch die verschiedensten Stadien mit Reagentien zu behandeln. Ich habe die Reagentienbehandlung sogar in der mannichfachsten Weise variiren und controliren können, welche Art der Behandlung die naturgetreusten Bilder liefert. Ich bin dabei zu dem Resultat gekommen, dass bei Actinosphaerium keine befriedigende Conservirung erzielt werden kann, wenn man dem Reagenz nicht so viel Osmiumsäure zusetzt, dass eine erhebliche Osmiumwirkung erzielt wird. Die besten Praeparate erhielt ich mittelst reiner Osmiumsäure (1—2 %), Osmium-Chromsäure (Gemisch von 1—2 % Osmiumsäure und 0.5 % Chromsäure), ganz besonders aber mittelst Osmium-Essigsäure (Gemisch von 1—2 % Osmiumsäure und 2 % Essigsäure). Um die Schwärzung zu verhüten habe ich entweder mit Picrocarmin oder Beale'schem Carmin gefärbt oder mit 2 % Kali bichromicum-Lösung ausgewaschen und dieses wieder durch häufiges Ausspülen mit destillirtem Wasser entfernt. Praeparate, welche mit Osmium-Essigsäure und später mit Kali bichromicum behandelt waren, ergeben namentlich bei Aufhellung in verdünntem Glycerin Bilder, welche dem Leben am meisten ähneln. Neben ihnen verdient die Behandlung mit Osmium-Essigsäure-Picrocarmin empfohlen zu werden, während das Beale'sche Carmin schadet, weil es Quellung veranlasst.

Ausserdem habe ich 1—2 % Essigsäure, 0,1—0,5 % Chromsäure und Kleinenberg's Picrin-Schwefelsäure wiederholt angewandt, ohne sonderlich mit ihnen zufrieden zu sein. Namentlich kann ich nicht in das Lob einstimmen, welches in der Neuzeit von Flemming der Wirkungsweise der Chromsäure gespendet worden ist, da sie bei Actinosphaerium wenigstens die Gestalt des

Kerns zur Zeit der Theilung verändert und unregelmässige Gerinnungen veranlasst. Nachträgliche Färbung mit Safranin hat mir ebenfalls keine guten Praeparate geliefert. Zum Theil war dieser Misserfolg vielleicht durch die Beschaffenheit des angewandten Safranins bedingt, zum Theil aber jedenfalls auch durch die Ungunst des Objects. Das Ungünstige bei dem Actinosphaerium liegt besonders darin, dass das Protoplasma sich mit Anilin intensiv färbt, was zur Folge hat, dass das ganze Thier sehr undurchsichtig wird. Wäscht man dagegen lange mit Alkohol aus, so leidet die Kernfärbung. Wer trotzdem sich der Anilinmethode bedienen will, muss das Thier zerzupfen oder noch besser durch Druck auf das Deckgläschen zerquetschen, nachdem das Thier in Canadabalsam eingebettet worden ist. Nicht selten gelingt es, auf diese Weise einzelne Kerne und Kernspindeln zu isoliren, welche viel leichter zu untersuchen sind. Isolation durch Druck und Zerzupfen habe ich übrigens auch in dem Falle vorgenommen, wo das Präparat wie z. B. bei Osmiumsäure-Behandlung genügend durchsichtig bleibt, da das Bild an Schärfe und Klarheit ausserordentlich gewinnt, wenn es nicht theilweise durch das protoplasmatische Vacuolengerüst verdeckt wird.

Nachdem ich mit meinen Untersuchungen über die Kerntheilung zur Klarheit gekommen war, zum Theil auch schon vorher, habe ich die Structur des ruhenden Kernes zu erforschen gesucht. Von einem ruhenden Kern kann man streng genommen nicht reden, weil auch in den Zwischenräumen zwischen zwei Theilungen die Kerne beständigen Veränderungen unterliegen, nur dass dieselben sich äusserst langsam vollziehen. Man kann ihren Zusammenhang daher nicht durch directe Beobachtung feststellen, sondern muss die neben einander auftretenden Zustände combiniren und daraus sich von der Umwandlung der Kernformen ein Bild entwerfen.

---

1. Der Bau des ruhenden Kerns.

Während man in früheren Zeiten für die verbreitetste Form des Kerns ein Bläschen hielt, von welchem ein kleineres Körperchen, der Nucleolus, umschlossen wird, ist man in der Neuzeit im Gegentheil bemüht, die Existenz einer solchen Kernform in Abrede zu stellen oder ihr Auftreten als etwas Aussergewöhnliches hinzustellen. Mehr und mehr macht sich die Ansicht geltend, dass der Kern ein Bläschen sei, welches von einem Gerüst oder auch einem vielfach verschlungenen Faden von Kernsubstanz durchsetzt wird. Bei den Rhizopoden fällt es nun leicht, die viel umstrittene uninucleoläre Kernform als etwas sehr häufiges bei vielen Heliozoen und den meisten Monothalamien (z. B. Arcella vulgaris) nachzuweisen. Auch bei Actinosphaerium habe ich mich von ihrer Existenz überzeugt, obwohl sie hier dem Beobachter nur selten entgegentritt, offenbar, weil sie einen rasch vorübergehenden Zustand darstellt.

Die Kerne des Actinosphaerium findet man, wie schon frühere Beobachter angeben, leicht auf, wenn man den Tubus des Microscops vorsichtig und allmählich senkt. Kurz bevor man den Punkt der schärfsten Einstellung erreicht hat, leuchten sie dem Beobachter als matt glänzende weissliche Stellen entgegen. Weniger auffällig sind sie, wenn man genau auf ihre optischen Durchschnitte einstellt; dann machen sie mehr den Eindruck von Vacuolen, welche in einem dichteren Protoplasma eingeschlossen sind. Ihre Umgrenzung ist scharf gezogen, was von der Anwesenheit einer Kernmembran herrührt. Letztere wird namentlich bei Behandlung mit Reagentien sehr deutlich, sie erscheint zwar auch dann nicht derb, aber doch dick genug, um die Bezeichnung doppeltcontourirt zu verdienen. Ihre Anwesenheit erleichtert es wesentlich, die Kerne beim Zerzupfen zu isoliren.

Wenn wir von den Kernkörperchen einstweilen absehen, so erscheint der Inhalt der Kernvacuolen im frischen Zustand vollkommen durchsichtig und homogen, als würde er von einer wasserklaren Flüssigkeit gebildet. Erst nach der Behandlung mit Reagentien wird eine Structur erkennbar, indem man nun in dem Zwischenraum zwischen dem Nucleolus und der Kernmembran sehr kleine Körnchen erblickt, welche untereinander gleich, dicht gedrängt und in gleichen Abständen vertheilt sind. In Carmin färbt

sich die betreffende Partie des Kerns matt rosa, auf Safraninpräparaten bleibt sie vollkommen farblos.

Man kann zweifelhaft sein, ob man hier eine normale Structur vor sich hat, welche im frischen Zustand nicht sichtbar ist und nur durch Reagentien deutlich gemacht wird, oder ob es sich um Kunstproducte handelt. Lange Zeit über habe ich selbst letzteres angenommen und die Ansicht gehabt, dass die Kernvacuole von Kernsaft erfüllt sei, welcher Eiweisssubstanzen in sich gelöst enthält, dass diese Eiweisssubstanzen durch die angewandten Reagentien zur Gerinnung gebracht und ausgefällt werden und die gleichmässige Körnelung hervorrufen. Aus später zu erörternden Gründen bin ich jetzt viel mehr geneigt, die Körnelung auf eine normale Structur des Kerns zu beziehen und als den optischen Ausdruck eines Gerüstes von achromatischer Kernsubstanz aufzufassen. In den Maschen des Kerngerüsts würde dann noch eine klare Füllmasse, wohl am besten Kernsaft, anzunehmen sein.

Im Centrum des Kerns liegt der Nucleolus; seine Contour ist scharf gezeichnet und fast stets durch einen Zwischenraum von der Wandung der Kernvacuole getrennt. Kann man schon aus letzterer Erscheinung mit einiger Sicherheit den Schluss ziehen, dass er für gewöhnlich nicht etwa einseitig der Kernwand angeschmiegt ist, so wird diese Deutung zur Gewissheit erhoben, wenn man isolirte Kerne durch Verschieben des Deckgläschens rotiren lässt. Denn auch dann kann man eine trennende Zone allseitig erkennen und nur ausnahmsweise eine Berührung des Nucleolus mit der Kernmembran constatiren.

Bei der Untersuchung des Nucleolus habe ich wiederholt gesehen, dass er aus zwei verschiedenen und scharf von einander getrennten Substanzen besteht, welche man am leichtesten im frischen Zustand, schwieriger bei Anwendung von Reagentien unterscheidet und die ich im Folgenden als Nuclein und Paranuclein bezeichnen werde. Die eine Substanz, das Nuclein, ist stark lichtbrechend, gerinnt in Chrom- und Essigsäure, dunkelt bei Osmiumsäurebehandlung und färbt sich intensiv in Carmin; man kann sie daher auch in Uebereinstimmung mit Flemming Chromatin nennen. Die andere Substanz, das Paranuclein, welche an Masse ausserordentlich viel geringer ist als jene, ist beim lebenden Thier sehr durchsichtig und zart contourirt und kann daher leicht übersehen werden; sie bleibt in Carmin farblos und wird auch bei der Anwendung von Osmiumsäure, Chromsäure und Essigsäure nicht schärfer contourirt. Die Behandlung mit Reagentien trägt daher

eher dazu bei, den zweiten geformten Bestandtheil undeutlicher zu machen, da dann die oben beschriebene Körnelung des Kerns auftritt und ihn verdeckt. Am besten konnte ich die Substanz zur Anschauung bringen, wenn ich verdünntes Beale'sches Carmin sehr kurze Zeit auf Osmiumsäure-Präparate einwirken liess, gerade nur so lang, als nöthig war, um eine matte rosa Färbung des Nucleolus zu bewirken und die Osmiumschwärzung zu verhindern. Aber auch dann war es immer nur ein Theil der Kerne, welcher die Structur zeigte.

Die Gestalt des Nucleolus ist sehr erheblichen Schwankungen unterworfen. Selten ist er kugelrund (Taf. I, Fig. 1). Dann besteht die Hauptmasse aus Nuclein und nur an einem Ende der Kugel fehlt ein Stück, als ob ein Theil durch einen Querschnitt entfernt worden wäre. Hier sitzt nun, die Kugel ergänzend, ein calottenförmiges Stück von Paranuclein auf und ist nicht selten mit einem kleinen Spitzchen in eine Einkerbung der Nucleinkugel eingelassen (Fig. 2). Wenn die Einkerbung tiefer und ansehnlicher ist, so nimmt die Nucleinmasse eine bisquit- oder hantelförmige Gestalt an, indem zwei Endanschwellungen entstehen, welche durch ein gekrümmtes Verbindungsstück zusammenhängen (Fig. 3); gleichzeitig bildet das Paranuclein ein schwach gekrümmtes Stäbchen, dessen Krümmung zur Krümmung der Nucleinmasse senkrecht gestellt ist und in sie eingreift wie zwei Kettenglieder mit ihren Enden in einander eingreifen (Fig. 4). Aus diesem Bild lassen sich zwei andere Bilder mit Leichtigkeit ableiten. Wenn man sich die Anschwellungen der Hantelköpfe verschmolzen denkt, so entsteht eine Nucleinscheibe mit einer excentrischen Oeffnung, einer Art Vacuole, in welche das Paranucleinstäbchen hineinragt (Fig. 5). Der Kernkörper gewinnt dann das Aussehen, welches mein Bruder vom Nucleolus des Seesterneies abgebildet hat, zur Zeit, wo das Keimbläschen anfängt sich aufzulösen und die Umgestaltungen beginnen, welche der Bildung der Richtungsspindel vorangehen.

Auf der anderen Seite kann das verbindende Stück der Hantel feiner werden und schliesslich ganz schwinden, so dass sich zwei Nucleoli bilden, welche von einander durch ein queres Stäbchen von Paranuclein getrennt werden. Die beiden Stücke besitzen in allen meinen Präparaten verschiedene Grösse; gewöhnlich ist das eine sogar ganz erheblich kleiner als das andere. Hiermit beginnen die plurinucleolären Kerne (Fig. 6—8), wie sie für gewöhnlich beim Actinosphaerium beobachtet werden.

Die Zahl der Nucleoli bei den plurinucleolären Kernen unterliegt vielfachen Schwankungen. Verhältnissmässig selten beträgt sie 3, häufiger dagegen 4, welche sich um das Körperchen von Paranuclein herum gruppiren. Letzteres besitzt dann häufig nicht mehr die Form eines Stäbchens, sondern ist rundlich und zeigt Spitzen, welche zwischen die Nucleoli vorragen. Gar nicht selten begegnet man dem in Figur 11 dargestellten Bild. Das Paranucleinkörperchen sieht aus, als bestände es aus 2 sehr kleinen Stäbchen, welche wie 2 Schenkel gekreuzt sind; die Nucleoli liegen an den Spitzen der Schenkel und etwas seitlich von ihnen.

Wir kommen jetzt zur Besprechung der Kernformen, welche man den grössten Theil des Jahres über und am häufigsten beobachtet und welche daher von früheren Forschern am meisten beschrieben worden sind. Im Innern des Kerns liegt ein Haufe von 6—20 Nucleoli, welche um so kleiner sind, je grösser ihre Zahl. Man möchte oft sagen, dass der Nucleolus in kleine Körnchen zerstäubt sei. Hier ist es sehr schwer festzustellen, was aus dem Paranuclein geworden ist, und nur durch viele und genaue Untersuchungen bin ich zu dem Resultat gekommen, dass es als ein Korn im Centrum des Haufens von Kernkörperchen enthalten ist, dass es mit einem feinen Fortsatz an jedes derselben herantritt und alle somit unter einander zu einer Rosette vereinigt (Fig. 12—15). Für diese Ansicht spricht unter Anderem auch die Gestalt der Nucleoli, welche keulenförmig sind, das dicke Ende nach aussen und das feinere centralwärts gewandt. Das centrale Ende zieht sich zu einem immer undeutlicher werdenden Faden aus. Ausserdem erklärt sich auch die Anordnung der Nucleoli, welche sich meistens in einem Kranz um das Kerncentrum gruppiren, während dieses selbst von ihnen frei ist (Fig. 16, 17). Wenn der Kranz nach einer Seite offen bleibt, so resultirt eine fächerförmige Anordnung wie in Figur 13 oder die Nucleoli liegen links und rechts vom Centrum in zwei Reihen vertheilt.

Dass die bisher geschilderten Zustände des Kerns aus einander hervorgehen und dass sie dabei im Allgemeinen sich an einander reihen, wie ich es angenommen habe, kann wohl kaum bezweifelt werden. Schwieriger ist es zu entscheiden, in welcher Richtung der Umbildungsprocess vor sich geht. Ich bin zur Ansicht gekommen, dass die Richtung genau derjenigen entgegengesetzt ist, welche ich bei der Schilderung aus Zweckmässigkeitsgründen gewählt habe. Die staubförmigen Nucleoli sind ursprünglich vor-

handen, erst allmählich vereinigen sie sich zu grösseren Stücken, bis endlich nur ein einziger Nucleolus und Paranucleolus gegeben ist; dann tritt die Theilung ein, über welche ich im nächsten Abschnitt sprechen werde.

Die Beschreibung des ruhenden Kerns kann ich nicht beschliessen, ohne Beobachtungen zu erwähnen, welche ich an sehr verschiedenen Kernen, aber stets nur nach Behandlung mit Reagentien gemacht habe. Ich fand im geronnenen Kernsaft farblose, kleinste, stark lichtbrechende Körnchen in geringer Zahl. Sie schienen untereinander und mit dem Nucleolus durch zarte Fäden zusammenzuhängen; sie erinnerten mich an eine Structur, welche ich auch im Keimbläschen junger Froscheier einmal gelegentlich gesehen habe. Wahrscheinlich gehören die Körnchen und Fäden ebenfalls dem Paranuclein zu (Fig. 18). Auf ihre Deutung komme ich später noch einmal zurück, wenn ich die Frage erörtere, wie sich die als Paranuclein beschriebenen Kerntheile zu der gleich anfänglich besprochenen Körnelung verhalten.

Literatur. Eine genaue und erschöpfende Darstellung der verschiedenen Kernformen des Actinosphaerium ist bisher noch nicht gegeben worden; in der Literatur liegen daher zur Zeit nur Angaben vor, welche einander zu widersprechen scheinen, da der eine Forscher vorwiegend diese, der andere jene Kernform zu Gesicht bekommen hat. M. Schultze[1]) hat nur Kerne oder, wie er selbst sich ausdrückt, Zellen, mit 2—8 Nucleoli, welche letztere er für die Kerne hielt, gesehen. Kölliker[2]) und später F. E. Schulze[3]) sprechen dagegen nur von uninucleolären Kernen. Letzterer kam zu dem Resultat, dass bei Behandlung mit destillirtem Wasser oder sehr verdünnter Essigsäure ein „im lebenden Thiere stets nur als eine zusammenhängende Masse erscheinender Körper oft in zwei oder mehr einzelne Klumpen zerfällt“ und neigt zur Annahme, dass sich so die Angaben über das Auftreten von vielen Nucleoli im Kern erklären. Bei einer mit E. Lesser[4])

---

[1]) M. Schultze, Das Protoplasma der Rhizopoden und Pflanzenzellen. Ein Beitrag zur Theorie der Zelle. Leipzig 1863. p. 36.

[2]) Kölliker, Ueber Actinophrys sol. Zeitschrift f. wissenschaftl. Zoologie. Bd. I p. 200.

[3]) F. E. Schulze, Rhizopodenstudien. Archiv f. mikroskop. Anatomie. Bd. X.

[4]) R. Hertwig und E. Lesser, Ueber Rhizopoden und denselben nahe stehende Organismen. Archiv f. mikroskop. Anatomie Bd. X Suppl.

gemeinsam ausgeführten Untersuchung der Actinosphaerium-Kerne hatten wir am lebenden Thier auch nur uninucleoläre Kerne aufgefunden; dagegen bezogen sich unsere Angaben über eine grössere Zahl von Nucleoli auf Thiere, welche mit Essigsäure behandelt waren, so dass der Einwand, es handele sich um einen künstlich durch Reagentien herbeigeführten Zerfall des einfachen Nucleolus nicht ausgeschlossen war. In der Neuzeit endlich hat Gruber[1]) die ruhenden Kerne, von Actinosphaerium beschrieben und abgebildet, aber in einer Weise, die ich schwer mit den Resultaten meiner Untersuchung vereinbaren kann. Ich glaube nicht, dass die uninucleolären Kerne Gruber's dasselbe sind, wie die von mir unter diesem Namen beschriebenen. Letztere sind grosse Kerne, von denselben Durchmessern wie die übrigen Kerne; erstere sollen wesentlich kleiner sein. Ich kann mir nur denken, dass Gruber die feingranulirten kleinen Kerne, welche aus der Theilung hervorgehen und später von mir besprochen werden sollen — dieselben zeigen ungefähr die Grössenverhältnisse und die Vertheilung wie in Gruber's Figur 2 — vor sich gehabt und den ganzen Kern für den Nucleolus gehalten hat. Unter dieser Vorraussetzung ist der helle Hof, welchen Gruber zeichnet, ein Kunstproduct, wie das sicher bei den Kerntheilungsfiguren der Fall ist, um welche Gruber ebenfalls einen thatsächlich nicht existirenden Hof angiebt. Ist diese Annahme richtig, dann hat Gruber uninucleoläre Kerne überhaupt nicht gesehen, ebensowenig wie die Kerne mit 2—4 Nucleoli.

2. Die Theilung der Kerne.

Die ersten Stadien der Kerntheilung von Actinosphaerium sind schwer aufzufinden, weil die Umlagerungen der Kernsubstanz, welche die Theilung vorbereiten, wenig in die Augen fallen und in Folge dessen leicht übersehen werden. Dieser Umstand kommt um so mehr in Betracht, als es ohnehin nur selten gelingt, Theilungsstadien zu beobachten. Sehr frühe Stadien der Kerntheilung habe ich überhaupt nur zweimal angetroffen, das eine Mal bei einem schon abgetödteten Exemplar, das andere Mal bei einem

[1]) Gruber, Ueber Kerntheilungsvorgänge bei einigen Protozoen. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. XXXVIII p. 375.

lebenden Actinosphaerium, welches ich auch frühzeitig abtödtete, um die wichtigen Kernformen in Musse untersuchen zu können.

Das an zweiter Stelle genannte Actinosphaerium besass zahlreiche uninucleoläre Kerne. Was mich sofort erkennen liess, dass die Kerntheilung sich vorbereite, war das Verhalten des Protoplasma, welches anfing sich im Umkreis des Kernes als eine homogene Masse anzusammeln. Bei vielen Kernen zeigte das homogene Protoplasma eine deutlich polare Anordnung, indem es sich an 2 entgegengesetzten Enden der Kernvacuole besonders reichlich angehäuft hatte und sich hier zu zwei kegelförmigen Aufsätzen erhob. Kern und Protoplasma erzeugten gemeinsam einen spindelförmigen Körper mit abgerundeten Enden, dessen Länge etwa doppelt so gross war wie die Breite. Die Kernvacuole lag genau in der Mitte der Spindel und füllte dieselbe aus, da ihr Durchmesser nahezu gleich gross war wie die Breite der Spindel. Bei den Kernen des anderen Actinosphaerium war die polare Anordnung des Protoplasma erst in der Entwicklung begriffen. Die Menge des um den Kern sich anhäufenden Protoplasma war zwar schon bedeutend, der dadurch veranlasste Hof hatte aber noch eine unregelmässige und bei den einzelnen Kernen verschiedene Gestalt, indem er bald hier, bald dort Verdickungen bildete.

Zum Theil war im Inneren des Kerns der einfache Nucleolus noch fast ganz unverändert, wenn wir davon absehen, dass seine Umrisse anfingen, unregelmässig höckerig zu werden. Meist aber waren erheblichere Veränderungen eingetreten. Das Kernkörperchen war tief eingeschnürt und in Lappen zerfallen und mit abgelösten Körnchen umgeben, seine Contouren nicht mehr so deutlich wie früher; oder es war mehr oder minder vollständig in einen Körnchenhaufen aufgelöst, in dem zuweilen noch ein grösseres, noch nicht in Körnchen umgewandeltes Stück des Nucleolus zu sehen war.

Die Beobachtung der soeben beschriebenen Bilder ist für mich Veranlassung zu der schon geäusserten Ansicht, dass der uninucleoläre Zustand aus dem multinucleolären durch Verschmelzung der Nucleoli hervorgeht und dass er Ausgangspunkt für die Kerntheilung wird. Ueberraschend sind hierbei die frühzeitigen Veränderungen des Protoplasma, um so überraschender als die Kerntheilung bei Actinosphaerium nicht zur Zelltheilung führt. Man könnte hieraus folgern, dass der Anstoss zur Kerntheilung vom Protoplasma ausgehe, dass erst durch die polare Anordnung des

letzteren die polare Differenzirung der Kernsubstanz hervorgerufen werde. Indessen kann man auch die Beobachtungen in einem ganz anderen Sinne verwerthen und zur Ansicht gelangen, dass im Kern frühzeitig eine Polarität vorhanden ist, bevor sie noch in seiner Structur zum Ausdruck gelangt, dass dieselbe sogar schon auf diesem Stadium Einfluss auf die Gruppirung des Protoplasma gewinnt. Welche von beiden Auffassungen die richtige ist, lässt sich durch Erörterung des einzelnen Falles nicht entscheiden; man muss da die Gesammtheit der bei den Kerntheilungen beobachteten Erscheinungen in's Auge fassen. Diese scheinen mir dem Kern die leitende Stellung anzuweisen und somit für die zu zweit genannte Auffassung zu sprechen.

Die Protoplasmakegel — so werde ich im Folgenden die polaren Ansammlungen homogenen Protoplasmas nennen — bleiben unverändert während fast der gesammten Kerntheilung bestehen und bilden sich erst spät zurück; ich kann sie daher bei der Beschreibung der nächsten Stadien mit Stillschweigen übergehen und mache hier nur darauf aufmerksam, dass sie leicht zu irrthümlichen Deutungen Veranlassung geben können. Da der Kern thierischer und pflanzlicher Zellen bei der Theilung in den meisten Fällen eine Spindelgestalt annimmt, so könnte man geneigt sein, auch beim Actinosphaerium auf späteren Stadien die Protoplasmaspindel zum Kern zu rechnen, um so mehr, als sie sich in Carmin ziemlich intensiv färbt. Das Irrthümliche dieser Anschauung ist nun nicht allein durch die Beobachtung der geschilderten frühen Stadien dargethan, sondern auch durch die Thatsache, dass das Protoplasma continuirlich in die umgebenden Trabekeln des schaumigen Körpers der Actinosphaerien übergeht. Um das zu beweisen, braucht man nur die Protoplasmaspindel nach der Erhärtung in Osmiumsäure durch Zerzupfen zu isoliren, wie das bei dem in den Figuren 35 und 36 auf Tafel I abgebildeten Exemplar auf einem vorgeschrittenen Stadium der Kerntheilung geschehen ist. Auch ist der Contour des Kerns gegen die Protoplasmaaufsätze allzeit deutlich erkennbar.

Alle von jetzt ab folgenden Stadien der Kerntheilung habe ich an relativ zahlreichen Exemplaren beobachten und einer genaueren Untersuchung unterwerfen können. Denn wenn auch während der unmittelbar sich anschliessenden Veränderungen die Kerne nichts besonders Auffälliges zeigen, so findet sich doch zwischen ihnen immer eine Anzahl anderer Kerne, welche in der Theilung schon weiter vorgeschritten sind und dabei charakteri-

stische Gestalten angenommen haben, die auch bei oberflächlicher Beobachtung sofort die Anwesenheit von Theilungsprozessen erkennen lassen.

Ich habe daher wiederholt von jetzt ab die Kerntheilung am lebenden Thier und im Zusammenhang bis zu Ende verfolgen können; leider habe ich verabsäumt, die Zeit zu bestimmen, welche der ganze Process für sich in Anspruch nimmt; aus der Erinnerung schätze ich sie etwa auf $1^1|_2$ Stunden.

Nachdem der Nucleolus zerfallen ist, macht der Kern, im frischen Zustand untersucht, den Eindruck eines soliden Körpers, einer Kugel, welche aus feinen, dicht aneinander gestellten und durch das ganze Innere gleichmässig vertheilten Körnchen besteht (Taf. I Fig. 19). Die Körnchen werden immer feiner, so dass man nichts als eine ausserordentlich zarte Punktirung wahrnimmt (Fig. 20). Nun fangen die oberflächlichen Partieen an, sich allmählich aufzuklären und homogen zu werden; die sich bildende helle Schicht ist anfänglich ringsum gleich breit (Fig. 21), sie wird aber schon frühzeitig breiter an den Polen, welche durch die Protoplasmakegel von Anfang an kenntlich gemacht sind (Fig. 22); hier bleibt sie allein bestehen, während in der Gegend des Aequators die homogene Masse wieder verschwindet. Der Kern setzt sich daher jetzt zusammen aus einem feinkörnigen Mittelstück und zwei homogenen Endstücken von der Gestalt von Kugelmützen, welche gegen das Mittelstück nur undeutlich abgegrenzt sind. Eine scharfe Grenze tritt erst später auf, wenn das Mittelstück sich weiterhin differenzirt hat. In ihm entwickelt sich nämlich ein dunkles, anfänglich nach beiden Kernenden hin verwaschenes (Fig. 23), später scharf gezogenes queres Band (Fig. 24), als der Ausdruck einer äquatorialen Lage, der Kernplatte; der übrige Theil der feinkörnigen Masse nimmt in der Nachbarschaft der Pole eine streifige Beschaffenheit an und setzt sich von den homogenen Enden um so schärfer ab, je deutlicher die einzelnen Streifen werden. Die homogenen Enden, welche mit den Protoplasmaaufsätzen nicht verwechselt werden dürfen, da sie Theile des Kerns selbst sind, nenne ich Polplatten. Sie sind zwar wesentlich schmäler als früher geworden, aber sowohl von dem Protoplasma wie von den übrigen Theilen des Kerns durch äusserst scharfe Contouren getrennt. Dagegen ist es nicht möglich, sie von der Kernmembran zu unterscheiden, sie sehen wie verdickte Partieen derselben aus. Die besprochene Streifung dehnt sich allmählich nach den äquatorialen Partieen des Kerns aus, bis die

einzelnen Streifen durch die Kernplatte hindurch sich als feingekörnte parallele Linien von einer Polplatte bis zur entgegengesetzten erstrecken.

Inzwischen hat sich auch die Gestalt des Kerns verändert, seine Längsaxe hat sich verkürzt, seine Breite zugenommen; am breitesten wiederum ist er genau in der Gegend des Aequators, als ob er hier durch die in Bildung begriffene Kernplatte auseinandergedrängt würde. Die Polplatten haben dagegen die Gestalt äusserst niedriger breitbasiger Kegel.

Während der nächsten Stadien erhalten sich die beiden Polplatten nahezu unverändert, und nur an der Kernplatte spielen sich wichtige Umgestaltungen ab. Sie wird dunkler, schärfer contourirt nnd nimmt an Dicke zu, wobei ich als Dicke ihre Ausdehnung nach der Axe des Kerns verstehe (Fig. 25); zugleich wird auch eine feinere Structur an ihr immer deutlicher. Eine zarte, sehr regelmässige Streifung parallel der Längsaxe des Kerns weist darauf hin, dass die Platte aus lauter Stäbchen besteht, welche dicht neben einander gestellt sind, wie die Stiftchen eines Mosaiks, dann spaltet sich die Kernplatte der Quere nach in 2 Theile, die Seitenplatten (Fig. 26). Dieser wichtige, in der Neuzeit vielfach in Abrede gestellte Vorgang lässt sich beim Actinosphaerium durch directe Beobachtung feststellen. Inmitten der Kernplatte bildet sich eine helle Partie aus, welche sich rasch vergrössert und als querer äquatorialer Spalt den ganzen Kern durchsetzt. Die Spaltungsproducte der Kernplatte oder die Seitenplatten stimmen mit dieser, wie es nach ihrer Entwickelungsweise sich nicht anders erwarten lässt, vollkommen im feineren Bau überein und erwecken gleichfalls den Eindruck, als wären sie aus kleinen in querer Richtung zusammengefügten Stiftchen gebildet, nur mit dem Unterschiede, dass die Stiftchen wesentlich kürzer sind. Indem der äquatoriale Spalt sich erweitert, weichen die beiden Seitenplatten nach den Kernpolen zu auseinander. Dabei dehnt sich die Längsstreifung des Kerns in undeutlicher Weise auch auf die zwischen den Seitenplatten gelegene Partie aus.

Mit der Spaltung der Kernplatte beginnt von Neuem eine Veränderung der Kerngestalt, welche sich nun wieder in die Länge streckt unter entsprechender Abnahme der Breite. War früher der Kern im Aequator besonders hervorgetrieben, so kann er jetzt in derselben Gegend vorübergehend eine leichte Einschnürung erfahren. Die Längsstreckung des Kerns nimmt langsam zu bis zur Zeit der Theilung; mit ihr combinirt sich eine leichte band-

förmige Abplattung des Kerns und später auch eine schwache Krümmung über eine seiner Breitseiten.

Die beiden Seitenplatten sind kurz nach ihrer Entstehung von ebenen und parallelen Flächen begrenzte Scheiben. Je mehr sie aber auseinander weichen (Fig. 27), um so mehr krümmen sie sich schüsselförmig, weil sie sich in ihren mittleren Partieen rascher von einander entfernen als in der Peripherie; da sie ausserdem rascher auseinander weichen als sich der Kern streckt, gelangen sie bald an die Kernpole und verschmelzen hier so innig mit den Polplatten (Fig. 28), dass beiderlei Substanzen sich durchdringen und eine einzige Masse bilden. Um diese Zeit gewährt der Kern ein äusserst charakteristisches Bild: die beiden Enden (Fig. 29 bis 32) werden durch zwei hohle Halbkugeln bezeichnet, welche stark das Licht brechen und vollkommen homogen aussehen; sie kehren einander ihre Höhlungen zu und sind verbunden durch eine durchsichtige, kaum noch streifige Partie, welche dem Kerne ebenfalls angehört, da sie seitlich durch mehr oder minder deutliche Contouren vom Protoplasma gesondert ist. Die convexen Seiten der Halbkugeln tragen die kegelförmigen Protoplasmaaufsätze.

Bei der Schilderung der letzten Stadien der Kerntheilung bespreche ich die einzelnen Theile getrennt. Die terminalen hohlen Halbkugeln stellen offenbar die wichtigsten Partien dar; sie nähern sich mehr und mehr der Kugelgestalt und schrumpfen zu kleinen soliden Körpern zusammen, indem ihre Wandungen sich verdicken und das Lumen entsprechend bis zu völligem Schwund eingeengt wird. Eine Zeit lang findet sich noch eine Einkerbung an der Stelle, wo die Aushöhlung sass, dann verstreicht auch sie (Fig. 33 und 34).

Inzwischen hat sich das Verbindungsstück des Kerns gestreckt und eingeschnürt. Es ist im frischen Zustande kaum noch wahrzunehmen, da es inmitten von homogenem Protoplasma liegt, welches ursprünglich die conischen Aufsätze bildete, während der Theilung des Kerns aber allmählich mehr nach dem Aequator verlagert worden ist.

Wenn endlich der Verbindungsstrang ganz durchschnitten ist, und seine Hälften in die neu entstehenden Tochterkerne aufgesogen worden sind, hat die Theilung ihr Ende erreicht. Die Tochterkerne sind wesentlich kleiner als der Mutterkern; sie sind gleichmässig fein granulirte Körper, welche sehr lebhafte Wanderungen ausführen, auf einander zu rücken, um sich dann wieder zu ent-

fernen. Bei diesen Wanderungen fällt es sehr schwer, sie im Auge zu behalten, da sie im frischen Zustande sich wenig vom umgebenden Protoplasma absetzen. Die kleinen feinkörnigen, aus der Theilung hervorgegangenen Kerne hat meiner schon ausgesprochenen Vermuthung zu Folge Gruber für die Nucleoli uninucleolärer Kerne gehalten. Bei Behandlung mit Chromsäure können sie zu homogen erscheinenden kugeligen Körpern gerinnen, es kann ferner die Kernmembran abgehoben werden und so das von Gruber geschilderte und auch von mir wiederholt beobachtete Bild (Taf. II, Fig. 26) entstehen.

Wie es fast stets zu sein pflegt, sind auch bei der Kerntheilung von Actinosphaerium manche Verhältnisse beim lebenden Thiere nicht gut zu erkennen. Ich habe daher zahlreiche Exemplare auf sehr verschiedenen Stadien abgetödtet und eine Serie von Bildern erhalten, wie man sie sich vollständiger überhaupt nicht wünschen kann. Aus derselben werde ich die wichtigsten Theilungszustände herausgreifen und genauer besprechen. Um möglichst sicher zu gehen, dass mir keine wesentlichen, mit den jetzigen optischen Hilfsmitteln erkennbaren Structuren entgehen könnten, bediente ich mich zur Untersuchung einer ausgezeichneten Oelimmersion Zeifs $\frac{1}{18}$ und der Wasserimmersionen I, K und L.

Auf den ersten Stadien der Kerntheilung unterscheiden sich die mit Reagentien gewonnenen Präparate von den frischen nur durch die schärfere Zeichnung der Körnelung; dagegen war es nicht möglich, einen Schritt in der Untersuchung weiter zu kommen und die Frage zu entscheiden, ob wirklich einzelne Körnchen vorliegen oder ob das Bild nur der optische Ausdruck eines spongiösen Gerüsts von Kernsubstanz ist. Dazu sind die einzelnen Structurelemente zu zart und fein, selbst wenn man Oelimmersion und starke Oculare bei sehr gutem Lichte anwendet. Im Allgemeinen sprach der Eindruck mehr zu Gunsten der Annahme eines spongiösen Gerüsts.

Sehr empfindlich sind die Kerne gegen die Anwendung verdünnter Reagentien. Leicht treten Quellungen ein und heben die Kernmembran vom granulirten Inhalt ab. Dann zeigen alle Kerne eine homogene Zone, wie sie nur vorübergehend im Laufe der Entwicklung auftritt.

Für die weiteren Stadien haben die mit Reagentien (Osmium-Essigsäure) erzielten Präparate den Vorzug vor dem lebenden Objecte, dass die streifige Beschaffenheit des Kernes deutlicher ist und schon zu einer Zeit erkannt werden kann, wo die homogene

Polsubstanz sich soeben an den Kernenden anzuhäufen beginnt (Taf. II, Fig. 1 u. 2). Die äquatorialen Partieen des Kerns sind um diese Zeit unregelmässig feinkörnig und trübe, letzteres ganz besonders, wenn man die Präparate gefärbt hat; sie werden nach den Polen zu lichter, indem die Körnchen spärlicher werden und zugleich eine reihenförmige Anordnung gewinnen [1]). Die Körnchenreihen sind gegen die in Bildung begriffenen Polplatten noch nicht deutlich abgesetzt. Erst wenn letztere auf einen schmalen Streifen reducirt werden und sich gleichsam verdichten, tritt eine scharfe Grenze zwischen dem streifigen Theil des Kerns und den homogenen Polplatten auf (Taf. II, Fig. 3). Ich will hier gleich bemerken, dass die Polplatten in ihrer Reaktion an das Paranuclein erinnern. Am deutlichsten sind sie im frischen Zustande, bei Reagentienbehandlung, namentlich starker Färbung werden sie undeutlicher, am besten werden sie nachgewiesen, wenn man Osmium-Essigsäurepräparate mit doppelt chromsaurem Kali behandelt.

Eine auffallende Erscheinung ist es, dass von dem Moment ab, wo die periphere Aufhellung des feinkörnig gewordenen Kerns beginnt, eine Kernmembran durch Reagentienbehandlung nicht mehr deutlich gemacht werden kann, obwohl die scharfe Begrenzung des Kerns in keiner Weise alterirt wird. Das Gesagte gilt auch für sämmtliche weitere Stadien der Kerntheilung.

Nachdem die Polplatten sich abgegrenzt haben (Fig. 3), ist die Streifung durch den ganzen Kern hindurch von einem Pol zu dem anderen so deutlich zu verfolgen, dass man annähernd die Zahl der auf dem optischen Längsschnitt des Kerns neben einander liegenden Streifen bestimmen kann, eine Zahl, welche nicht immer die gleiche ist und von der Grösse des Kerns abhängt. Wie sehr dieselbe Schwankungen unterliegt, kann man daraus entnehmen, dass ich bei einem Actinosphaerium auf dem optischen

---

[1]) Aus dieser Zeit habe ich einmal eine pathologische Bildung beobachtet (Taf I, Fig. 37). Die Aufhellung des Kerns war nicht an den Polen vor sich gegangen, sondern in der einen Hälfte des Kerns, während auf der andern Seite sich die sonst im Aequator liegende Körnchenanhäufung befand. Von letzterer aus strahlten radienartig die Körnchenreihen allmählich undeutlicher werdend in die homogene Substanz aus. Die Protoplasmaanhäufung war auch auf die Seite des Kerns (selbstverständlich die aufgehellte) beschränkt. Man kann sich das Bild so entstanden denken, dass die beiden Kernpole anstatt einander gegenüber, sich neben einander auf derselben Seite entwickelt hatten und wegen ihrer benachbarten Lagerung zusammengeflossen waren.

Längsschnitt des Kerns neben einander 22 Streifen zählte, bei einem anderen Exemplar dagegen nur 12. Ferner ist es möglich, mit vollkommener Sicherheit zu ermitteln, dass die Streifung durch parallele Fäden bedingt ist, und dass diese Fäden noch eine feinere Structur besitzen. Bei sehr starken Vergrösserungen sieht jeder Faden aus, als bestände er, ähnlich einer Perlenkette, aus kleinen an einander gereihten Körnchen (Taf. II, Fig. 24).

Die Entwicklung der Kernplatte ist nun dadurch bedingt, dass sich die Körnchen in der Gegend des Aequators anhäufen. Ausserdem aber scheinen auch die einzelnen Körnchen unter einander zu verschmelzen, so dass aus Vereinigung mehrerer kleinerer ein grösseres Element entsteht. Denn so grosse Körner, wie wir später in der Kernplatte antreffen, sind anfänglich nicht vorhanden. So lange nur eine einzige Reihe, oder — richtiger gesagt — Lage von Körnchen vorhanden ist, ist die Kernplatte schmal (Fig. 5); sie wird breiter, wenn sich zu ihnen weitere Theilchen hinzugesellen. Je mehr dieser Anhäufungsprocess vorgeschritten ist, um so schärfer setzt sich die Kernplatte gegen die übrigen Theile des Kerns ab. Alles das tritt besonders gut an gefärbten Präparaten hervor. Ist die Kernplatte vollkommen gebildet, so färben sich die Kernfäden ausserhalb derselben sehr wenig oder gar nicht, auch sehen sie nur schwach granulirt aus, die Stäbchen der Kernplatte dagegen sind an guten Carminpräparaten rubinroth und bilden in ihrer Gesammtheit ein breites Querband, das an Canadabalsam-Präparaten scharf begrenzt dem Beobachter entgegenleuchtet. Jedes Stäbchen erscheint nur so lang als ein einheitliches Element, als man mässig starke Systeme anwendet, von der Oelimmersion $\frac{1}{18}$ oder auch Wasserimmersion K und L wird es in eine Reihe (etwa 6—7) nahezu gleich grosser Körner aufgelöst, welche dicht und gleichmässig an einander gefügt sind. Ganz anders fallen die Bilder aus, wenn man frühere Stadien wählt, wo die Kernstreifung sich entwickelt, eine Kernplatte entweder noch fehlt oder eben erst im Entstehen begriffen ist. Solche Kerne sind mit Ausnahme der farblosen Polplatten nahezu gleichmässig gefärbt oder doch nur wenig dunkler nach dem Aequator zu; die Körnchen sind klein und gleichmässig im Verlauf der Kernfäden vertheilt. Zwischen beiden Extremen kann man zahlreiche vermittelnde Bilder erhalten, Bilder, bei welchen eine verschwommene, dunkler gefärbte mittlere Schicht vorhanden ist, andere, bei welchen in derselben die erste Anlage der Kernplatte durch intensivere Färbung

bemerkbar wird, bis zu denen, wo die imbibitionsfähigen Substanzen fast allein in der Kernplatte enthalten sind.

Man kann aus diesen Ergebnissen zweierlei Schlüsse ziehen: erstens, dass vorübergehend eine innige Vermengung von chromatischen und achromatischen Kernbestandtheilen vorhanden ist, dass später aber eine locale Sonderung beider eintritt. Die Kernfäden enthalten zuerst beide Bestandtheile, sie sind feinste Stränge achromatischer Substanz mit eingestreuten Chromatinkörnchen, in Folge dessen färbt sich der Kern diffus. Wenn sich die Chromatinkörnchen in der Kernplatte vereinigt haben, bleiben die die Grundlage der Kernfäden bildenden Achromatinfäden zurück.

Zweitens kann man aus den mitgetheilten Beobachtungen entnehmen, dass die Kernplatte als ein einheitliches Element entsteht und nicht wie es nach Flemming und Strasburger in vielen andern Fällen zutrifft, von Anfang an schon in die Seitenplatten differenzirt ist. Ich habe auf diesen Punkt viel Aufmerksamkeit verwandt und die Kernplatte auf den verschiedensten Entwicklungsstadien untersucht. Zur Zeit wo sie noch schmal ist, habe ich stets nur die oben erwähnte einfache Reihe von Chromatinkörnchen auffinden können, welche dazu noch alle in der gleichen Ebene lagen und somit unter einander gleichwerthig waren. Ich habe das sowohl an Osmium-Carminpräparaten gesehen als auch an Kernen, welche mit Chromsäure abgetödtet und in Safranin gefärbt waren (Fig. 5). Später sind die Bilder nicht mehr in gleichem Maasse beweiskräftig, da die Stäbchen, die Elemente der Kernplatte, aus einzelnen Körnern bestehen; indessen sie bieten auch keinen Anhaltspunkt zur Annahme, dass die Sonderung in die Seitenplatten schon präformirt sei. Eine derartige Ansicht wird ausserdem auch widerlegt durch die Beobachtung der folgenden Processe, welche zur Spaltung der Kernplatte in die Seitenplatten führen.

Hat man einen Kern in dem Moment abgetödtet, wo die Spaltung der Kernplatte soeben vor sich geht, so kann man schon mit Hilfe von Wasserimmersion erkennen, dass einzelne Stäbchen in die Elemente der Seitenplatten zerfallen sind, andere aber noch nicht (Fig. 7 u. 8). Letztere gehören aber schon mit ihren Enden den in Bildung begriffenen Seitenplatten an und sind nicht selten in der Mitte bisquitförmig eingeschnürt, als ob sie demnächst hätten getheilt werden sollen. In Figur 25 stelle ich ausserdem zum Beweis einen bei Zeiss $^1/_{18}$ Oc. 2 gezeichneten Kern auf einem etwas früheren Stadium dar. Der Beginn der Spaltung liess sich

hier daraus errathen, dass die Kernplatte sehr breit war und als Ganzes bei schwacher Vergrösserung betrachtet in ihren centralen Partieen eine Aufhellung als Ausdruck des hier sich bildenden Spaltes erkennen liess. Die meisten Stäbchen waren noch ungetheilt, wenn wir ihre Zusammensetzung aus Körnchen ausser Acht lassen, andere dagegen, welche die Veranlassung zu der centralen Aufhellung abgaben, waren in ihrer Mitte mehr oder minder ansehnlich verdünnt.

Nach der Spaltung der Kernplatte erhält sich die Zusammensetzung der Seitenplatten aus einzelnen parallel gestellten Stäbchen lange Zeit über (Fig. 9—11). Selbst wenn sie mit den Polplatten verschmolzen sind und die schüsselförmige Gestalt angenommen haben, ist zunächst die Structur noch zu erkennen, wenn auch mit verminderter Deutlichkeit. Die Stäbchen sind noch fester als früher gegen einander gepresst (Fig. 10), ihre peripheren Enden sind etwas keulig verdickt, ihre centralen Enden dagegen etwas zugespitzt. Auch die Streifen, welche sich zwischen den Seitenplatten ausspannen, sind noch vorhanden als sehr zarte, farblose, schwach körnige Linien. In ihnen sah ich einige Male eine Structur, welche etwas an die Zellplatte Strasburger's erinnerte (Fig. 13). Bei den betreffenden Kernen waren die Seitenplatten erst durch einen schmalen Zwischenraum getrennt und dem entsprechend noch nicht mit den Polplatten verschmolzen. Genau dem Aequator entsprechend zog sich quer durch die Kerntonne eine einfache, eben nur noch angedeutete Lage von Körnchen. Obwohl Gruber etwas Aehnliches abbildet, möchte ich doch auf den Befund nicht viel Gewicht legen, da ich an zahlreichen anderen auf gleichen Stadien befindlichen Kernen die Körnchenzone nicht habe wieder finden können. Ich glaube vielmehr, dass sie durch unregelmässige Gerinnung herbeigeführt worden ist.

Für die Endstadien der Theilung ist die Behandlung mit Reagentien von keinem weiteren Belang; ich begnüge mich daher noch einen Kern zu beschreiben, welcher kurz bevor das Verbindungsstück durchriss, abgetödtet worden war (Fig. 15). Die schüsselförmigen Endstücke waren stark gefärbt und ganz homogen und zeigten auch keine Andeutung mehr von Stäbchenstructur; beide besassen noch auf den einander zugewandten Seiten eine tief in das Innere vordringende Einkerbung und hingen durch einen schmalen Verbindungsstrang zusammen, der sich deutlich durch das umgebende Protoplasma verfolgen liess. Die terminalen

Protoplasmaanhäufungen fehlten, da ihre Substanz zum Theil sich vertheilt, zum Theil zwischen die entstehenden jungen Tochterkerne eingeschoben hatte und den Verbindungsstrang umhüllte.

Wenn letzterer ganz durchschnitten ist und seine Theile in die Kerne aufgenommen worden sind, nehmen diese ein feinkörniges Aussehen an. Dabei bleibt lange Zeit über eine helle Partie wie eine Vacuole im Innern des Kernes erhalten. Ich habe oben schon hervorgehoben, dass die Kerne um diese Zeit leicht durch Gerinnung leiden, wodurch die in Figur 26 abgebildeten Bilder entstehen.

Literatur. Zum Schluss gebe ich noch eine Beurtheilung der Resultate, zu denen Gruber gelangt ist, da es diesem bisher allein geglückt ist, Kerntheilung bei Actinosphaerien zu beobachten. Gruber hat nur ein einziges Exemplar untersuchen können und zwar, nachdem es mit 2 % Chromsäure behandelt, in Picrocarmin gefärbt und in Canadabalsam eingeschlossen war; er hat daher keine Gelegenheit gehabt, die Reihenfolge der Stadien durch directe Beobachtung festzustellen und durch Vergleich mit dem lebenden Thier die Wirkungsweise des Reagens zu controliren; so erklären sich manche Irrthümer in seiner Darstellung.

Was zunächst die Beobachtungen anlangt, so leiden alle Abbildungen an dem gemeinsamen Fehler, dass Gruber um die Kerntheilungsfigur einen hellen von der Kernmembran umschlossenen Hof zeichnet und die polaren Protoplasmaanhäufungen und die Polplatten gar nicht erwähnt. Daraus schliesse ich, dass das Präparat ungenügend conservirt war. Auf die Conservirung und den Einschluss in Canadabalsam ist es ferner zurückzuführen, dass die streifige Structur des Kerns unvollkommen, die Stäbchenstructur der Seitenplatten gar nicht erkannt worden ist. Die Körnchenreihe, welche an die Zellplatte bei pflanzlichen Zellen erinnert, zeichnet Gruber bei zwei Kernen und hält sie für die Anlage einer Scheidewand, welche bestimmt ist, beide Kerne zu trennen. Diese Deutung sowie die ganze Art, wie Gruber die einzelnen Stadien combinirt, ist irrthümlich. Der multinucleoläre Kern soll sich ihm zufolge direct in den sich theilenden Kern verwandeln, indem sich die Nucleoli in 2 Gruppen sonderen, welche verschmelzend die Seitenplatten liefern; nun soll der Kern sich in zwei Stücke theilen, von denen ein jedes zunächst noch eine Seitenplatte in ihrer ursprünglichen Gestalt enthält, bis diese sich in den Nucleolus umwandelt. Was hier Gruber als Theilstücke beschreibt, sind die Kerne vor der Theilung, bei denen sich die äqua-

toriale Kernplatte ausgebildet hat; er hat die Stadien hier geradezu in die umgekehrte Reihenfolge gebracht, als es in der Natur der Fall ist. Dagegen hat er mit Recht aus den Befunden bei Actinosphaerium geschlossen, dass hier der Nucleolus bei der Theilung eine hervorragende Rolle spielt und dass die Contouren des Kerns niemals verschwinden, was ein Eindringen von Protoplasma in das Innere des sich theilenden Kerns unwahrscheinlich mache.

Beurtheilung der Beobachtungen.

In den folgenden allgemeinen Erörterungen werde ich mich auf die bei Actinosphaerium vorliegenden Verhältnisse beschränken. Sie haben nur den Zweck kurz die Punkte hervorzuheben, welche für den Bau des Kerns und den Verlauf der Kerntheilung von Actinosphaerium charakteristisch sind, und sollen ausserdem noch einige bei der Beobachtung zweifelhaft gebliebene Punkte durch Vergleich mit anderen Thieren aufzuklären versuchen.

Aus den Untersuchungen über den ruhenden Kern geht mit aller Sicherheit hervor, dass die sich färbenden Bestandtheile des Kerns, das Chromatin oder das Nuclein, keine spongiösen Gerüste bilden wie bei den von Frommann, Flemming und Strasburger beschriebenen meisten thierischen und pflanzlichen Kernen. Alles Nuclein ist in den Kernkörperchen enthalten, welche sich daher bei Anwendung von Carmin vorwiegend, bei Anwendung von Safranin sogar ausschliesslich färben, während die umgebenden Kernbestandtheile entweder nur matt rosa oder vollkommen farblos aussehen. Wenn zahlreiche Nucleoli das Innere eines Kerns erfüllen, so sind dieselben lauter einzelne Nucleinkörner, welche, sofern sie überhaupt zusammenhängen, durch achromatische Substanz vereinigt werden.

Schwieriger ist es eine richtige Beurtheilung der übrigen Theile, welche sich im Actinosphaeriumkern neben den Nucleoli vorfinden, zu geben. Solche sind 1. die durch Anwendung von Reagentien sichtbar werdende Körnelung. 2. die mannigfach gestalteten auch im frischen Zustand erkennbaren Paranucleinstücke. 3. die oben ganz kurz noch erwähnten, in Figur 18 abgebildeten stark lichtbrechenden Körperchen; 4. die Kernmembran. Lassen wir letztere zunächst ausser Acht, so scheinen mir die 3 übrigen Elemente auf ein und dieselbe Bildung zurückführbar zu sein, auf ein Gerüst farbloser Substanz, welche man Paranuclein

oder Achromatin nennen kann, ein Gerüst, welches den Zwischenraum zwischen dem Nucleolus und der Kernmembran ausfüllt. Dass ein solches Gerüst bei genügender Feinheit optisch auch bei den stärksten Vergrösserungen nur unter dem Bild einer feinen Körnelung erscheint, ist genügend bekannt; zu erläutern bliebe daher nur, wie sich dazu die unter 2 und 3 aufgeführten Theile verhalten. Ich deute sie als besondere Verdichtungen des achromatischen Gerüstes, welche in Folge dessen schon im frischen Kern zu erkennen sind. Hierzu würde sehr wohl passen, dass ich sie vielfach vermisst habe; denn es wäre ganz gut denkbar, dass das Gerüst häufig einen in allen seinen Theilen gleichförmigen Charakter besitzt und nur ab und zu in der Gegend der Kernkörperchen sich verdichtet.

Zu der hier vorgetragenen Deutung meiner Befunde habe ich mich erst entschlossen, als ich mit ganz analogen Verhältnissen bei Insectenkernen bekannt wurde, auf welche ich in einer späteren Publication zurückkommen werde. Bei den Insectenkernen ist auch ein einfacher Nucleolus vorhanden, welcher sich allein färbt, ausserdem ein Gerüst von achromatischer Substanz, welches schon im frischen Zustand undeutlich erkannt werden kann, aber erst bei Anwendung von Reagentien schärfere Contouren erhält. Da die Kerne sehr gross sind, sind die einzelnen Maschen des Gerüsts weit und können schon mit guten Trockensystemen aufgelöst werden.

Ganz besonders aber wurde ich bei meinem Urtheil bestimmt durch die Beobachtung eigenthümlicher Umwandlungen, welche die Structur der Insectenkerne erleidet, wenn, wie ich vermuthe, die Kerntheilung vorbereitet wird. Vom Nucleolus, dessen Contouren unregelmässig lappig werden, lösen sich Körnchen ab und verbreiten sich im achromatischen Gerüst, bis er ganz in kleine Körnchen aufgelöst ist. Um diese Zeit wird auch bei den Insectenkernen das Bild eines Gerüstwerks getrübt, weil die weit verbreiteten, an Safraninpräparaten intensiv rothen Chromatinkörnchen dem Kern ein gekörneltes Ansehen verleihen. Die Umwandlungen finden in den zur Theilung sich vorbereitenden Kernen des Actinosphaerium ihr vollkommenes Gegenstück; wenn wir oben gesehen haben, dass vom Nucleolus sich Körnchen sondern und schliesslich die ganze chromatische Substanz als eine Menge feinster Körnchen das Innere der Kerne erfüllt, so deute ich jetzt diesen Vorgang nach Analogie der Insectenkerne dahin, dass die Verbreitung der

Chromatinkörnchen auf den Bahnen eines präformirten Gerüsts achromatischer Substanz sich vollzieht und so eine innige Durchdringung beider Kernsubstanzen herbeigeführt wird.

Zur genaueren Charakteristik der Kernmembran liefern meine Untersuchungen keinen Beitrag. Sie ist ein besonderes Element des Kerns und von der Kernsubstanz verschieden, da sie sich gar nicht färbt. Mit den derben Hüllen, wie sie das Binnenbläschen der Radiolarien und die Keimbläschen vieler thierischer Eier umschliessen, scheint sie mir gleichfalls nicht vergleichbar zu sein, da sie im frischen Zustand nur als eine zarte Contour erscheint und erst bei der Anwendung von Reagentien, welche Gerinnungen erzeugen, deutlicher wird. Sie scheint daher aus einer gerinnungsfähigen Substanz zu bestehen, so dass man an eine Verwandtschaft mit dem Paranuclein oder Achromatin denken könnte.

Was nun die Theilung des Kernes anlangt, so nimmt dieselbe ihrem gesammten Charakter nach eine vermittelnde Stellung ein zwischen den Kerntheilungen, wie sie bei den Pflanzen und den Thieren vorkommen, und den Kerntheilungen der Protozoen. Letztere nähern sich am meisten dem Schema, welches man früher von der directen Kerntheilung entworfen hat. Die bisquitförmige Einschnürung des Kernes, welcher stets seine deutlichen Contouren beibehält, tritt bei den Protozoen in den Vordergrund; die inneren Differenzirungen der Kernsubstanz fehlen entweder ganz oder äussern sich nur in einer gleichförmig faserigen Beschaffenheit. Eine Ausnahme von dieser Regel machen zur Zeit nur die Nebenkerne der Infusorien, bei denen es zur Bildung von Kern- und Seitenplatten kommt. Bei den Kerntheilungen der Pflanzen und Thiere dagegen ist die bisquitförmige Einschnürung undeutlich, da die Contouren des Kernes überhaupt nicht scharf gezogen sind. Wird doch hier gerade in der Neuzeit wieder behauptet, dass die Grenzen von Kernsubstanz und Protoplasma bei der Theilung gänzlich untergehen und dass sogar eine Vermengung beider Substanzen eintritt. Dafür erscheint die ganze Kerntheilung vielmehr unter dem Bilde einer complicirten und äusserst regelmässig verlaufenden Umlagerung der Kerntheilchen, welche zu der so wichtigen Differenzirung in die achromatischen Kernfäden und die chromatischen Elemente der Kern- und Seitenplatten führt. Beide Substanzen sind so scharf von einander getrennt, dass man sie für Elemente halten könnte, die nichts mit einander zu thun haben.

Das Actinosphaerium theilt mit den Protozoen die Gestaltveränderungen, welche der gesammte Kern während der Theilung

erfährt; derselbe ist ebenfalls auf jedem Stadium scharf umgrenzt und schnürt sich zum Zweck der Theilung im Aequator bisquitförmig ein. Bei Actinosphaerium ist es daher nicht gut zulässig, die vorübergehend von Flemming vertretene und neuerdings wieder von Strasburger aufgenommene Ansicht zu vertreten, dass die Kernfäden aus Protoplasma bestehen, welches nach Auflösung der Kernmembran in das Kerninnere eingedrungen ist. Eine solche Annahme stösst bei näherer Prüfung auf grosse Schwierigkeiten, da die Streifung des Kerns in einem erheblichen Abstand von der Kernmembran durch eine streifige Anordnung des körnig gewordenen Kerninhalts ganz allmählig sich entwickelt.

Soweit es sich um innere Structuren handelt, bieten die in Theilung begriffenen Actinosphaerienkerne viele Anknüpfungspunkte an die Kerne der Thiere und Pflanzen, namentlich die Kerne thierischer Eizellen. Wie bei den letzteren bildet sich eine Kernplatte, spaltet sich dieselbe in die aus einander rückenden Seitenplatten, wandern die einzelnen Stücke der Seitenplatten an achromatischen Fäden den Kernpolen zu. Gleichzeitig fehlt es aber auch nicht an Momenten, welche an die Kerntheilung der übrigen Protozoen erinnern. Vor dem Auftreten der Kernplatte findet sich ein Stadium, welches bei der Kerntheilung der Infusorien, vorzüglich von Spirochona gemmipara auftritt. Wie dort, so verlaufen von Polplatte zu Polplatte Streifen, welche sich noch in ganzer Ausdehnung färben. Mir scheint hier ein Anhaltspunkt für die Deutung der sich theilenden Infusorienkerne gegeben zu sein. Das betreffende Stadium ist bei Actinosphaerium dadurch veranlasst, dass die achromatischen Kernfäden in ihrer ganzen Ausdehnung Chromatinstückchen enthalten. Ich glaube, dass man etwas Aehnliches auch für die Infusorien annehmen muss, dass auch hier die Kernfäden selbst aus Achromatin bestehen, dass sie aber in ganzer Ausdehnung von Chomatin bedeckt sind, dass sie in Folge dessen selbst gar nicht sichtbar werden oder doch nur in so fern, als sie einen Einfluss auf die Anordnung der Chromatintheile gewinnen.

Aber die Kerntheilung von Actinosphaerium verdient, auch abgesehen von der vermittelnden Stellung, welche sie einnimmt, ein hervorragendes Interesse, ganz besonders durch die Art und Weise, wie die Seitenplatten gebildet werden. Bei den thierischen Zellen ist Flemming zum Resultat gekommen, dass sie von Anfang an getrennt angelegt werden, und Strasburger ist ihm für die pflanzlichen Objecte beigetreten. Flemming namentlich

hat dann weiter diese Wahrnehmung generalisirt; überall soll die Zweitheilung der chromatischen Elemente in eine linke und rechte Seitenplatte schon zur Zeit vorhanden sein, wo die plattenförmige Anordnung beginnt, auch da, wo früher eine einheitliche Kernplatte, welche durch Spaltung die Seitenplatten liefere, angenommen wurde. Mir scheint hier Flemming zu weit zu gehen. Bei Actinosphaerium jedenfalls treffen seine Vermuthungen nicht zu. Ich will nicht allzuviel Werth auf die Beobachtung legen, dass man am lebenden Thier die Kernplatte erst einheitlich sieht und dann durch directe Beobachtung die Spaltung verfolgen kann. Hier könnte ja eine Täuschung obwalten, indem es möglich wäre, dass die Theile der Seitenplatten zwar schon getrennt sind, aber dicht bei einander liegen und dass so die Sonderung verdeckt würde. Aber ich muss betonen, dass die Bilder, welche man mit Reagentienbehandlung gewinnt, dieser immerhin etwas gekünstelten Deutung direct widersprechen. Erstens kann man die Spaltung der Kernplatte an den einzelnen Elementen nachweisen, welche bisquitförmig eingeschnürt sind; zweitens kann man beobachten, dass die erste Anlage der Kernplatte eine einzige Körnchenreihe ist. Namentlich die zweite Beobachtung, welche ich wiederholt gemacht habe, scheint mir jede andere Deutung auszuschliessen.

Eine dritte Besonderheit endlich, durch welche sich die Kerntheilung des Actinosphaerium auszeichnet, ist die Anwesenheit der Polplatten. Dieselben sind Anhäufungen einer homogenen Substanz, die sich zwischen den streifigen Theil des Kerns und die homogenen Protoplasmakegel einschieben. Sie können nur für Derivate des Zellkerns angesehen werden, da sie durch Aufhellung der peripheren Partieen des Kerns entstehen. Auch sind sie anfänglich nur gegen das Protoplasma, nicht aber gegen die streifige Kernsubstanz scharf gesondert. Hier tritt erst ganz allmählich die Grenze deutlich hervor, um später wieder zu verschwinden, wenn die aus Chromatin bestehenden Seitenplatten mit ihnen verschmelzen.

Schwieriger ist es zu entscheiden, welche Bestandtheile des Kerns in ihnen enthalten sind. Im Ganzen scheinen mir nur 2 Möglichkeiten gegeben, entweder ist es das Paranuclein oder es ist die Kernmembran, welche die Polplatten liefert. Für die Kernmembran spricht der Umstand, dass die Polplatten sich von ihr gar nicht absetzen. Allein dabei muss man in Betracht ziehen, dass um diese Zeit von einer deutlich nachweisbaren Kernmembran überhaupt nicht die Rede sein kann. Als einziger Beweis

für die Fortdauer derselben kann die scharfe Contourirung des Kerns angeführt werden, während eine klare und bestimmte doppelt contourirte Schicht nicht mehr sichtbar ist. Auch würde mit einer Ableitung aus der Kernmembran die ganze Entstehungsweise der Polplatten wenig harmoniren.

Weiteres Licht wird auf die uns hier beschäftigende Frage geworfen, wenn wir die ähnlichen Verhältnisse, welche ich früher von der Spirochona gemmipara[1]) beschrieben habe, zur Beurtheilung heranziehen. Bei diesem Infusor sind während der Kerntheilung ebenfalls Polplatten vorhanden; sie sind sogar viel mächtiger als bei dem Actinosphaerium, was es möglich macht, den Beweis zu führen, dass sie Etwas von der Kernmembran Verschiedenes darstellen. Wie ich dort im Einzelnen zu begründen versucht habe, gehen sie aus einem nucleolusartigen Körper hervor, welcher kurz vor der Theilung sich individualisirt und bei den die Theilung einleitenden Vorgängen eine bedeutsame, man möchte fast sagen diese Vorgänge beherrschende Rolle spielt. Sie erhalten sich auch nach der Theilung als besondere, durch eine scharfe Demarkationslinie abgegrenzte Theile des Kerns, bis aus ihnen wieder durch Umwandlung der erwähnte nucleolusartige Körper hervorgeht.

Bei der grossen Uebereinstimmung im Aussehen und in der Anordnung kann es nicht zweifelhaft sein, dass die Polplatten von Actinosphaerium und Spirochona gleichwerthige Bildungen sind; daraus folgt aber mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass sie auch bei Actinosphaerium aus Theilen hervorgehen, welche innerhalb der Kernmembran liegen. Und so werden wir auf die zweite Möglichkeit hingeleitet, dass die Polplatten aus dem Paranuclein entstehen, eine Ansicht, die in dem ganzen optischen Verhalten und dem ganzen Imbibitionsvermögen beider Substanzen wichtige Stützen findet.

Bei der Ableitung der Polplatten aus dem Achromatin begegnen wir nun einer auf den ersten Blick ziemlich erheblichen Schwierigkeit. Aus der achromatischen Substanz, dem Paranuclein, habe ich oben auch die Kernfäden abgeleitet. Die Kernfäden scheinen aber bei Actinosphaerium scharf gegen die Polplatten abgesetzt, als wären sie Gebilde ganz anderer Art, während doch bei der hier ausgesprochenen Vermuthung man erwarten müsste,

---

[1]) R. Hertwig, Ueber den Bau und die Entwicklung der Spirochona gemmipara. Jenaische Zeitschrift Bd. XI p. 149.

dass sie continuirlich sich in die Polplatten fortsetzen. Indessen auch diese Widersprüche lassen sich meiner Ansicht nach ohne Schwierigkeit erklären.

Von den Kernfäden thierischer und pflanzlicher Objecte unterscheiden sich die Kernfäden des Actinosphaerium durch ihre fein gekörnelte Beschaffenheit. Schon im speciellen Theil deutete ich diese Erscheinung durch die Annahme, dass die Kernfäden zwar aus Paranuclein bestehen, dass sie aber ausserdem noch geringe anhaftende Spuren von tingirbarem Nuclein enthalten. Letzteres ist anfänglich zweifellos in ganzer Ausdehnung auf den Kernfäden vorhanden, ehe es sich zu der Kernplatte concentrirt und verleiht den Kernfäden ein sehr deutliches gekörneltes Aussehen. Zurückbleibende Spuren von Nuclein sind es wahrscheinlich, welche auch später die Körnelung der an sich homogenen Kernfäden bedingen und der Grund werden, dass die Fäden gegen die Polplatten scharf gesondert sind.

Tafelerklärung.

Tafel I.

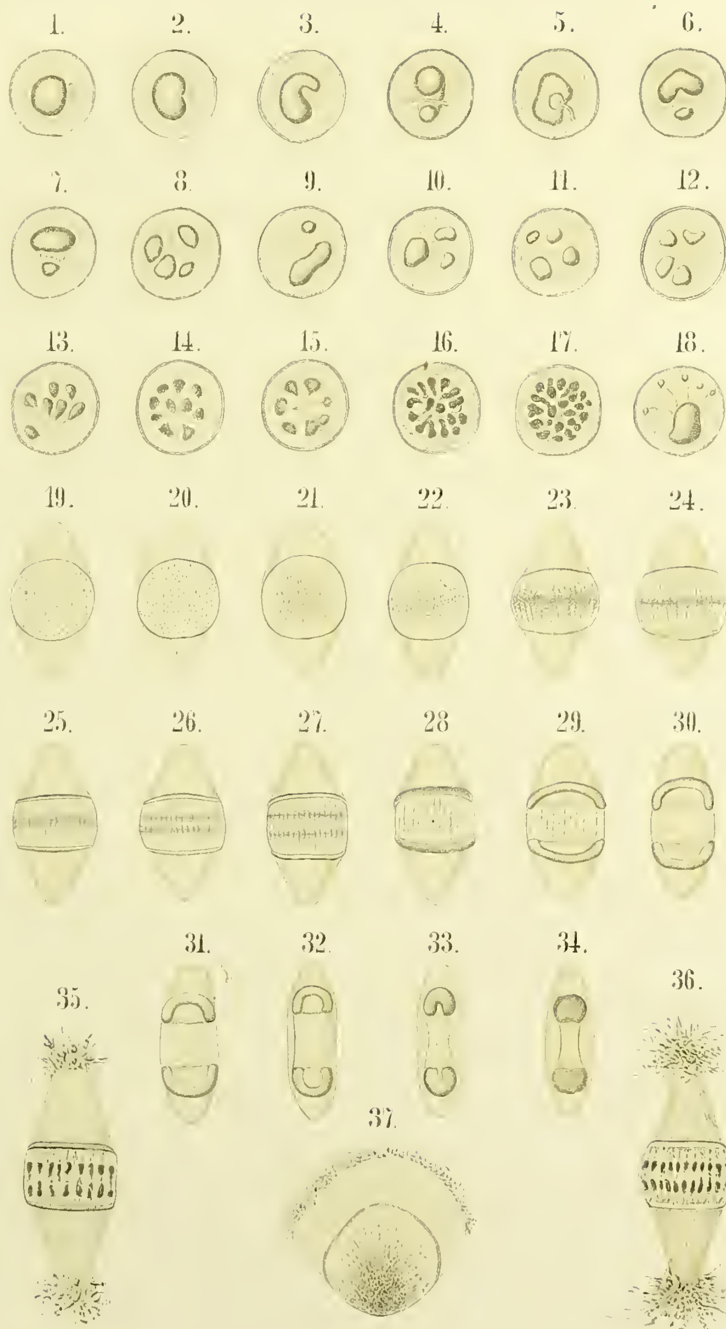
Sämmtliche Figuren sind bei Zeiss J. Oc. 2 gezeichnet.

Fig. 1—18. Verschiedene Formen des ruhenden Kerns nach Behandlung mit Osmium-Essigsäure, z. Th. mit nachfolgender Carminfärbung, z. Th. mit nachfolgender Behandlung mit Kali bichromicum.

Fig. 19—34. Verschiedene Stadien der Kerntheilung im frischen Zustand, nach 2 Objecten gezeichnet; von dem einen stammen Fig. 19—24, von dem anderen 24—34. Die Bilder waren zunächst ohne Prisma nach dem lebenden Object entworfen worden; Grösse und Gestalt der Kerne wurden später genauer bestimmt nach fixirten Präparaten, welche mit dem Prisma gezeichnet wurden.

Fig. 35 und 36. 2 Spindeln durch Zerzupfen isolirt.

Fig. 37. Ein Kern, bei welchem die Kerntheilung einen abnormen Verlauf genommen hat. Osmium-Essigsäurepräparat. Zeiss $\frac{1}{18}$ Oc. 2.



Verl. v. Gustav Fischer, Jena. Lith. v. Giltsch

Tafel II.

Fig. 1—16. Verschiedene Stadien der Kerntheilung von verschiedenen Exemplaren, welche mit Osmium-Essigsäure oder Osmium-Chromsäure behandelt und dann z. Th. gefärbt, z. Th. mit Kali bichromicum ausgewaschen worden waren. Nur Fig. 5 und 13 nach Chromsäure-Safraninpräparaten gezeichnet. Zeiss $\frac{1}{18}$ Oc. 2.

Fig. 17—23. Vorbereitungen zur Kerntheilung. Fig. 17—22 von einem, Fig. 23 von einem anderen Actinosphaerium. Zeiss $\frac{1}{18}$ Oc. 2.

Fig. 24 und 25. 2 Stadien der Kerntheilung, mit Osmium-Essigsäure behandelt und mit Picrocarmin gefärbt. Zeiss $\frac{1}{18}$ Oc. 3. Tubuslänge 250 mm.

Fig. 26. Aus der Theilung hervorgegangene Kerne nach Chromsäurebehandlung, Kernmembran von dem geronnenen Kerninhalt abgehoben, so dass das Bild eines uninucleolären Kernes entsteht. Zeiss $\frac{1}{18}$ Oc. 2.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.




1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
17.
14.
15.
16.
18.
19.
20.
21.
22.
23.
24.
26.
25.

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig,
o. Professor der Anatomie an der Universität
Jena.

und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität
Bonn.

Heft 1.

Die Kerntheilung

bei

Actinosphaerium Eichhorni.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1884.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Welchen Einfluss

übt

die Schwerkraft

auf die

Theilung der Zellen?

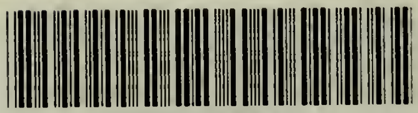
Von

Dr. Oskar Hertwig,
o. ö. Professor der Anatomie an der Universität Jena.

Mit 1 lithographischen Tafel.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1884.


WELLCOME
HISTORICAL MEDICAL LIBRARY


22900369411

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig,
o. Professor der Anatomie an der Universität
Jena.

und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität
Bonn.

Heft 2.

Welchen Einfluss übt die Schwerkraft auf die Theilung der Zellen?



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1884.

Welchen Einfluss

übt

die Schwerkraft

auf die

Theilung der Zellen?

Von

Dr. Oskar Hertwig,
o. ö. Professor der Anatomie an der Universität Jena.

Mit 1 lithographischen Tafel.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1884.


WELLCOME
HISTORICAL
MEDICAL
LIBRARY

Vor noch nicht Jahresfrist hat E. Pflüger zwei wichtige Abhandlungen[1]) veröffentlicht: „Ueber den Einfluss der Schwerkraft auf die Theilung der Zellen und auf die Entwicklung des Embryo". In denselben hat Pflüger, wie schon aus dem Titel hervorgeht, sich das besondere Verdienst erworben, ein ganz neues Forschungsgebiet eröffnet zu haben. Am Froschei, welches seit Prevost und Dumas so oftmals eingehenden Untersuchungen über den Furchungsprocess gedient hat, hat er jetzt wieder eine Reihe ganz neuer und auf den ersten Blick sehr merkwürdiger Erscheinungen entdeckt und dadurch bereits eine Anzahl weiterer Arbeiten anderer Forscher hervorgerufen.

Wie Pflüger mit Recht bemerkt, haben die Eier der Batrachier für die Lösung gewisser principieller Fragen die werthvolle Eigenschaft, dass sie bei einer ziemlich beträchtlichen Grösse aus einer dunkel pigmentirten und aus einer hellen, weil unpigmentirten Hemisphäre, bestehen und in Folge dessen auch eine feste und leicht bestimmbare Eiaxe besitzen, welche man erhält, wenn man die Mitte der pigmentirten mit der Mitte der unpigmentirten Hälfte der Kugeloberfläche verbindet. Die Axe nimmt stets eine lothrechte Stellung ein, wenn Froscheier befruchtet und in Wasser gebracht werden, so dass die Gallerthülle quellen kann. Hier-

[1]) 1) E. Pflüger, Ueber den Einfluss der Schwerkraft auf die Theilung der Zellen. Archiv f. d. ges. Physiologie Bd. XXXI 1883.

2) Derselbe, Ueber den Einfluss der Schwerkraft auf die Theilung der Zellen und auf die Entwicklung des Embryo. 2. Abhandlung. Archiv f. d. ges. Physiologie. Bd. XXXII 1883.

bei wird immer der Mittelpunkt der schwarzen Hemisphäre, nach oben gekehrt, daher er auch als oberer oder animaler Pol bezeichnet wird im Gegensatz zum Mittelpunkt der weissen Hemisphäre, dem unteren oder vegetativen Pol. Der Schwerpunkt des Eies fällt mithin nicht mit dem Centrum der Kugel zusammen, sondern ist mehr dem vegetativen Pole genähert. Zu der Eiaxe stehen die beiden ersten Furchungsebenen in einem gesetzmässigen und leicht erkennbaren Verhältniss. Sie sind ebenfalls genau lothrecht gestellt und schneiden einander unter rechtem Winkel in einer Linie, welche unter normalen Verhältnissen mit der Eiaxe zusammenfällt und Furchungsaxe genannt wird. So zerlegt sich das Ei durch die zwei ersten Theilungen in vier gleichgrosse Stücke, deren jedes mit einer schwarzen oberen und einer weissen unteren Hälfte versehen ist. Die dritte Theilungsebene bildet sich darauf genau in horizontaler Richtung aus, fällt aber nicht mit dem Aequator des Eies zusammen, sondern schneidet die Eiaxe in einiger Entfernung vom animalen Pole, so dass jetzt vier kleinere nach oben gelegene oder animale Zellen und vier grössere, zum Theil unpigmentirte, am vegetativen Pole symmetrisch gruppirte, vegetative Theilstücke entstanden sind.

Von diesem normalen Furchungsschema hat Pflüger höchst interessante Abweichungen durch experimentelle Eingriffe hervorrufen können. Er hat die nach der Befruchtung bald eintretende Drehung der Eier dadurch zu verhindern gesucht, dass er die letzteren mit ihrer klebrigen Schleimhülle einzeln auf Uhrschälchen festklebte und sie nur mit einem Tropfen besamten Wassers befruchtete. Da in Folge des geringen Wasserzusatzes die Gallerthülle nicht genügend quellen kann, bleibt sie dem Dotter fest aufliegen und hemmt das Rotiren desselben, ohne aber das Eintreten des Furchungsprocesses zu stören. Der Experimentator hat so ein Mittel in der Hand, um beim Aufkleben der Gallerthülle oder später durch Verstellung der Uhrschälchen der Eiaxe jede beliebige Richtung zur Horizontalebene zu geben. Hierbei entdeckte Pflüger die auffallende Thatsache, dass auch in allen den Fällen, wo die Eiaxe keine lothrechte ist, doch die beiden ersten Furchungsebenen mit Constanz vertical gestellt sind, und er zog aus diesen Fundamentalversuchen, sowie aus einer Reihe sich anschliessender weiterer Beobachtungen den weittragenden Schluss, dass die Schwerkraft einen richtenden Einfluss auf die Zelltheilungen ausübt, dass „die schliessliche Richtung der Zelltheilung aus der Summe aller Wirkungen resultirt, welche die

Schwere in einer Reihe von Stunden auf den Zellinhalt ausgeübt hat.“ Er bezeichnet die von ihm entdeckten Thatsachen „als einen speciellen Fall eines allgemeineren noch unbekannten Gesetzes, wonach die Schwerkraft die Organisation überhaupt beherrschen soll.“

Als ich die bedeutungsvollen Abhandlungen kennen lernte, wollte es mir auf Grund der Erfahrungen, welche ich über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der verschiedensten Thiere gesammelt hatte, fraglich erscheinen, ob die an sich ausserordentlich werthvollen Experimente nur die eine ihnen von Pflüger gegebene Deutung zuliessen. Bei Gelegenheit einer Discussion, welche sich in unserer medicinischen Gesellschaft gleich nach dem Erscheinen der ersten vorläufigen Mittheilung von Pflüger entspann, sprach ich die Ansicht aus: es möchten die neu entdeckten Thatsachen sich wohl so erklären lassen, dass im Froschei sich Substanzen von verschiedenem specifischem Gewicht befinden, von welchen die eine normaler Weise mehr nach dem animalen Pol, die andere nach dem vegetativen Pole zu angesammelt ist, woraus sich das Bestreben der Eier ihre primäre Axe lothrecht zu stellen erklärt. Wenn nun die Eier in eine Zwangslage, wie es durch Pflüger geschehen ist, gebracht worden sind, werden sie zwar verhindert in der Dotterhaut zu rotiren, bis der excentrisch gelegene Schwerpunkt in die Ruhelage gekommen ist, aber desswegen ist noch keineswegs ausgeschlossen, dass nicht im Innern eine Verschiebung der verschiedenartigen Eibestandtheile an einander erfolgt, bis letztere wieder sich mehr oder minder an dem durch die Zwangslage bestimmten oberen Pole angesammelt und dadurch ein dem normalen Zustand ähnliches Gleichgewichtsverhältniss hergestellt haben. Zur Veranschaulichung meiner Ansicht wies ich auf das Hühnerei, an welchem die Keimscheibe auch den höchsten Punkt im Dotter einnimmt, mag das Ei gelagert werden wie es will. Die Heranziehung dieses Beispieles lag mir nahe. Lehrt uns doch eine vergleichende Betrachtung, dass die inäqual sich furchenden Eier, zu welchen das Froschei gehört, einen Uebergang bilden zu den meroblastischen Eiern der Fische, Vögel und Reptilien. Die bei ersteren am animalen Pole angesammelte Substanz entspricht der Keimscheibe, doch mit dem Unterschiede, dass die Sonderung des Bildungsdotters vom Nahrungsdotter hier schärfer durchgeführt, dort gleichsam noch mehr in Vorbereitung begriffen ist.

Ob die von Pflüger aufgestellte Hypothese, dass die Schwerkraft die Zelltheilung überhaupt beherrscht, richtig ist,

muss sich zeigen, so schloss ich weiter, bei der Theilung von solchen kugeligen Eiern, die aus gleichartigem Dottermaterial aufgebaut einen central gelegenen Schwerpunkt haben. An den Eiern der Echinodermen, welche diesen Bedingungen entsprechen, nahm ich mir vor eine derartige Prüfung durchzuführen, sobald sich mir dazu eine Gelegenheit bieten würde. Soweit mir aus meinen früheren Untersuchungen noch erinnerlich war, konnte hier die erste Theilungsebene die verschiedensten Stellungen zu einer lothrechten Axe einnehmen.

Noch ehe ich Gelegenheit hatte, mir hierüber wieder Gewissheit zu verschaffen, hat Born wenige Monate nach der Publication von Pflügers Abhandlungen gegen die in ihnen aufgestellte Hypothese Zweifel laut werden lassen und dieselben in einer Anmerkung in seinen „Beiträgen zur Bastardirung zwischen den einheimischen Anurenarten“ ausgesprochen [1]).

Born vermuthet, es möchten sich die von Pflüger mitgetheilten Thatsachen in der Weise erklären lassen, dass bei den in Zwangslage befindlichen Eiern der befruchtete Kern resp. dessen Umgebung als der specifisch leichtere Theil des Eiinnern seinen Platz verändere und sich, soweit es die Consistenz der Eirinde erlaubt, dem höchsten Puncte der Eioberfläche nähere. Er versprach an den Froscheiern eine experimentelle Prüfung nach dieser Richtung im nächsten Frühjahr vorzunehmen, was jetzt auch geschehen ist. Während ich noch am Mittelmeer verweilte, hat Born bereits eine kurze Mittheilung [2]) seiner Ergebnisse veröffentlicht. Aus ihnen geht in der That hervor, dass bei Eiern, die in Zwangslage gebracht werden, Verlagerungen im Eimaterial namentlich in Bezug auf den Kern eintreten, was sich zum Theil schon am Studium der Oberflächenveränderungen, hauptsächlich aber an Durchschnittsbildern erkennen lässt.

Gleichzeitig mit Born haben Roux und Rauber die Pflüger'sche Hypothese einer experimentellen Prüfung unterworfen.

---

[1]) G. Born, Beiträge zur Bastardirung zwischen den einheimischen Anurenarten. Arch. f. d. ges. Physiologie XXXII pag. 479—81.

[2]) G. Born, Ueber den Einfluss der Schwere auf das Froschei. Verhandlungen der medicinischen Section der schlesischen Gesellschaft für vaterländische Cultur. Lieferung vom 4. April 1884. Separatabdruck aus der Breslauer ärztlichen Zeitschrift Nr. 8.

Roux[3]) stellte den Versuch an, ob die Froscheier sich bei Aufhebung der richtenden Wirkung der Schwere noch entwickeln können. Er brachte gleich nach der Befruchtung das Beobachtungsmaterial in feuchte Watte verpackt auf einen Centrifugalapparat, dessen Umdrehungsgeschwindigkeit so regulirt wurde, dass die an ihm befestigten Eier während der Umdrehung die beliebig durcheinander gerichteten Anfangsstellungen ihrer Eiaxen beibehielten. Es zeigte sich, dass die Eier sich nicht minder gut und minder rasch entwickelten, als die unter normalen Bedingungen befindlichen; es wurde festgestellt, dass jetzt die erste Furchungsaxe immer, auch wenn die Objecte in der Gallerthülle fixirt worden waren, mit der Eiaxe zusammenfiel, dass die erste Horizontalfurche mit wenigen Ausnahmen wie normal näher dem schwarzen Pole lag, dass die schwarzen, jetzt weder oberen noch unteren Zellen sich rascher theilten als die weissen und dass der Urmund normaler Weise am Rande der weissen und schwarzen Hemisphäre sich befand. Roux zieht hieraus mit Recht den Schluss, „dass die Schwerkraft nicht unerlässlich nöthig für die Entwicklung ist, dass ihr keine nothwendige richtende und die Differenzirung veranlassende Wirkung zukommt", dass vielmehr „das befruchtete Ei alle zur normalen Entwickelung nöthigen gestaltenden Kräfte in sich selber trägt und producirt."

Rauber[2]) hat im Sinne von Pflüger Schwerkraftversuche an Forelleneiern angestellt. Wenn er dieselben mit eigens construirten versilberten Klammern fixirte und so lagerte, dass der Keim nach abwärts gerichtet war, so zeigte die Dotterkugel das Bestreben aus der umgekehrten Lage in die Normalstellung zurückzukehren. Dabei durchschritt der Keim, indem er die normale Lage zu gewinnen suchte, nicht etwa den Nahrungsdotter in kürzester Linie, sondern er machte eine peripherische Bewegung, es rotirte die ganze Eikugel innerhalb des zwischen ihr und der Eikapsel vorhandenen engen Zwischenraumes. Wenn man diesem Rotationsbestreben durch immer erneute Lagecorrecturen entgegen wirkte, so blieb eine normale Entwicklung aus. In einigen Fällen

---

[1]) Wilhelm Roux, Ueber die Entwickelung der Froscheier bei Aufhebung der richtenden Wirkung der Schwere.

Separatabdruck aus der Breslauer ärztlichen Zeitschrift. Nr. 6. 1884.

[2]) A. Rauber, Schwerkraftversuche an Forelleneiern.

Berichte der naturforschenden Gesellschaft zu Leipzig. 12. Febr. 1884.

bewahrte zwar der Keim als ganzes seine Form, war aber auf's seltsamste und nur in kleinen Strecken zerklüftet, in anderen Fällen dagegen bot er eine zerflossene dünne Schicht auf der Dotterkugel dar, ohne dass eine Spur von Furchung vorhanden war.

Rauber experimentirte auch mit der Centrifugalkraft und beobachtete, dass die Forelleneier sich im Centrifugalapparat so lagern, dass die Eiaxe wagrecht und zwar der Keim centripetal, der Nahrungsdotter centrifugal gerichtet ist, und dass sie sich in dieser Stellung ganz normal entwickeln. Rauber zieht aus diesen Experimenten den Schluss, dass die Schwerkraft auch durch die Centrifugalkraft ersetzt werden könne, dass aber eine richtende Kraft überhaupt vorhanden sein müsse, sei es diese oder jene, unter deren Einfluss die Entwicklung sich vollziehe.

Noch ehe die vorläufigen Mittheilungen von Born, Roux und Rauber erschienen waren, hatte ich während der Osterferien einen 6wöchentlichen Aufenthalt am Mittelmeer benutzt um neben anderen Untersuchungen die Pflüger'sche Theorie, wie ich es mir schon vor längerer Zeit vorgenommen hatte, an den Eiern der Echinodermen zu prüfen, welche für die Entscheidung der vorliegenden Fragen insofern wichtig sind, als sie einer äqualen Furchung unterliegen.

Die von mir zur Beobachtung gewählten Seeigeleier sind sehr klein, vollkommen durchsichtig und rein kugelig. Sie bestehen fast nur aus Protoplasma oder Bildungsdotter, der sehr kleine gleichmässig im Inhalt vertheilte Körnchen aufweist, während Dotterconcremente, Fetttropfen und dergl. ganz fehlen. Der befruchtete Kern kommt immer in den Mittelpunkt der Kugel zu liegen, in welchen wir auch wohl ohne Bedenken ihren Schwerpunkt verlegen dürfen, in Anbetracht der gleichförmigen Vertheilung und des gleichartigen Characters des Dottermaterials. Eine bestimmte Eiaxe lässt sich daher nicht unterscheiden, vielmehr dürfen wir annehmen, dass alle Axen einander gleichwerthig sind. Unmittelbar nach der Befruchtung hebt sich eine feine Membran von der Dotteroberfläche ab und lässt einen nicht unbeträchtlichen mit Flüssigkeit erfüllten Zwischenraum hervortreten, in welchem die Eikugel Rotationen unbehindert würde ausführen können.

Um die Eier während der Theilung unter dem Mikroskop zu beobachten, brachte ich eine grössere Anzahl nach vorgenommener Befruchtung in einen hängenden Wassertropfen an der Unterfläche eines Deckgläschen's, mit welchem eine kleine feuchte Kammer

geschlossen wurde, so dass die Entwicklung viele Stunden ungestört vor sich gehen konnte. Der Apparat wurde dann auf dem Mikroskoptisch ruhig stehen gelassen und die erste Theilung abgewartet, welche bei einer Zimmertemperatur von 14 Grad Reaumür etwa nach einer und einer halben Stunde erfolgte.

Da die Eier im hängenden Tropfen sowie in der weit abstehenden Dotterhaut ohne Hemmniss rotiren können, da ferner bei ihrer ausserordentlichen Kleinheit die Reibungswiderstände sehr gering sind, so musste es sich gewiss an solchen Objecten zeigen, ob die Schwerkraft eine richtende Wirkung auf die Zelltheilung ausübt. Von einer solchen aber war, um es gleich hervorzuheben, nichts zu bemerken. Schon auf dem Stadium, wo der faserig metamorphosirte Kern sich gestreckt und die am lebenden Object deutlich erkennbare Hantelfigur hervorgerufen hat, ist bei mittelstarken Vergrösserungen wie bei Zeiss D wahrzunehmen, dass die Axe der Kernspindel zwar häufig in der Horizontalebene liegt (Fig. 16 *c*), aber sehr oft auch alle möglichen Winkel mit derselben bildet. Nicht selten auch ist sie rein lothrecht gestellt, so dass dann die beiden Köpfe der Hantelfigur sich über einander befinden und sich bei mikroskopischer Untersuchung decken (Fig. 16 *b*). Dann sieht man, wenn man auf die Oberfläche des Eies einstellt, nur e i n e Strahlung, nur den einen Kopf der Hantel, und erst bei Senkung des Tubus gewahrt man die tiefer gelegene zweite, während die erste im mikroskopischen Bilde verschwindet.

Von der Stellung der Kernspindel, deren Lage am lebenden Objecte die Hantelfigur angibt, hängt es ab, in welcher Richtung später die Eikugel durch die Furchungsebene halbirt wird. Denn letztere schneidet immer die Axe der Kernspindel in ihrer Mitte unter rechtem Winkel. Wenn also die letztere in der Horizontalebene liegt, so muss die Furchungsebene später genau lothrecht stehen. Ist dagegen die Kernaxe lothrecht gestellt, so muss die Furchungsebene mit der horizontalen zusammenfallen. Schrägstellung der Kernaxe endlich bedingt in entgegengesetzter Richtung erfolgende Schrägstellung der Furchungsebene.

Demnach gestaltet sich nun auch das Resultat, wenn wir etwas später das Präparat nach erfolgter Theilung wieder untersuchen. Bei einem Theil der Eier sehen wir die Furchungsebene vertical gestellt, bei anderen unter allen möglichen Winkeln zur Horizontalebene schräg geneigt (Fig. 16 *a*), bei wieder anderen mit der Horizontalebene zusammenfallen, sodass (Fig. 16, *b*), da die Halb-

kugeln sich von oben gesehen decken, bei oberflächlicher Untersuchung das Ei wie ein ungetheiltes erscheinen kann.

Dasselbe Resultat erhält man, wenn die Prüfung in einer etwas anderen Weise vorgenommen wird. Man kann die befruchteten Eier, anstatt in den hängenden Tropfen zu bringen, auch in der gewöhnlichen Weise auf dem Objectträger mit einem Deckgläschen bedeckt untersuchen. Nur muss man dann das letztere, damit die unter ihm befindlichen Eier nicht gedrückt werden, mit entsprechend hohen Wachsfüsschen an den 4 Ecken versehen. Auch darf man die Eier erst eine Stunde vor Eintritt der Theilung unter das Deckgläschen bringen, da bei längerem Verweilen unter demselben sie theils durch mangelnden Zutritt von Sauerstoff, theils durch Verdunstung des Meerwassers geschädigt werden.

Die Eier der Echiniden lehren uns also, dass die Schwerkraft nicht schlechtweg einen richtenden Einfluss auf die Lage der Theilungsebenen thierischer Zellen ausübt, dass sie mithin auch keine Kraft ist, welche nach einem uns noch unbekannten Gesetze die thierische Organisation in weitgehender, tief eingreifender Weise beherrscht, wie es Pflüger nach seinen Experimenten am Froschei wahrscheinlich zu machen versucht hat.

Mit diesem negativen Ergebniss ist selbstverständlich die Frage, welche durch Pflüger auf die Tagesordnung gestellt worden ist, in keiner Weise erledigt. Es tritt daher jetzt an uns die Aufgabe heran, von unserem Standpunkt aus zu versuchen, ob zur Zeit eine Antwort auf die aufgeworfene Frage gegeben werden kann. Dies soll den Gegenstand für den zweiten Theil unserer Abhandlung bilden. In demselben werden wir nach den Ursachen zu forschen haben, durch welche die gesetzmässige Aufeinanderfolge der ersten Furchungsebenen in den thierischen Eiern und ihre in vielen Fällen nachweisbare gesetzmässige Orientirung im Raume hervorgerufen wird; und weiterhin werden wir im Anschluss daran zu prüfen haben, wie die durch experimentelle Eingriffe am Froschei erzielten abnormen Furchungserscheinungen zu erklären sind. Zu diesem Zwecke wollen wir uns aber nicht auf die Untersuchung der Eier von Frosch und Seeigel beschränken. Da ein Einzelfall besser verständlich wird, wenn er in seinem Zusammenhang mit der Gesammtheit gleichartiger Erscheinungen dargestellt wird, wollen wir die Gesammtheit der Erscheinungen, welche sich in den thierischen Eizellen vor und nach der Befruchtung abspielen, soweit es nothwendig ist, in das Auge fassen. Wir werden finden, dass hier ein ausgedehntes und werthvolles Be-

obachtungsmaterial vorliegt, durch dessen Heranziehung und Verwerthung ich zur Klärung der zu lösenden Aufgabe beizutragen hoffe.

Zur Erleichterung der Uebersicht wollen wir dasselbe in 4 Abschnitten besprechen. Von diesen handelt der erste über die Vertheilung der Dotterbestandtheile in der ungetheilten Eizelle. Der zweite Abschnitt wird sich mit der Lage des Kerns im thierischen Ei beschäftigen. In einem dritten Abschnitt wird dann auseinander gesetzt werden, wie von der Lage des Kerns und der Vertheilung des Dottermaterials die Richtung der ersten Furchungsebenen in gesetzmässiger Weise bestimmt wird, im vierten Abschnitt endlich haben wir auf die abnormen Furchungserscheinungen einzugehen. Die auf diesem Wege erzielten Ergebnisse werden wir in einem fünften Abschnitte zusammenfassen.

I. Abschnitt.

Ueber die Vertheilung der verschiedenen Dotterbestandtheile in der ungetheilten Eizelle.

Bekanntlich sind die Eier im Thierreich von einer ausserordentlich verschiedenen Grösse und Beschaffenheit. Bei einigen Arten so klein, dass sie kaum noch mit unbewaffnetem Auge als Pünctchen erkannt werden, erreichen sie bei andern Arten einen im Vergleich zu ersteren riesig zu nennenden Umfang wie in der Classe der Vögel und Reptilien. Gleichwohl haben wir es hier wie dort nur mit einem einfachen Elementartheil, nur mit einer einfachen einkernigen Zelle zu thun. Die verschiedene Grösse und Beschaffenheit der Eier aber hängt davon ab, dass in das Protoplasma der Zelle, hier mehr, dort minder, in mannichfach wechselnder Beschaffenheit Reservestoffe abgelagert werden, welche die Bestimmung haben, allmählich während der embryonalen Theilungsprozesse zur Ernährung der Embryonalzellen aufgebraucht zu werden. Die beiden nach Aussehen und Bestimmung verschiedenen Eibestandtheile hat man als Bildungsdotter und Nahrungsdotter unterschieden, wobei man unter ersterem das active Zellenplasma versteht. Je kleiner die Eier sind, umsomehr bestehen sie fast durchweg aus Bildungsdotter, wie z. B. die Eier der Echinodermen; je mehr sie an Grösse zunehmen, umsomehr wächst in gleichem Maasse der Reichthum des Nahrungsdotters, der aus Eiweiss-plättchen, -schollen, und -kügelchen, aus Fett-körnchen

und -Tropfen zusammengesetzt ist. In der Vertheilung dieses Materiales lässt sich eine gewisse gesetzmässige Erscheinung nicht verkennen. Wenn die Eier klein und nur mit Spuren von Nahrungsdotter versehen sind, so ist derselbe meist gleichmässig im Eiinhalt vertheilt. In Folge dessen fällt der Schwerpunkt — wir wollen uns hier nur mit solchen Eiern beschäftigen, die, wie es ja fast durchweg der Fall ist, Kugelgestalt haben — mit dem Centrum der Kugel zusammen. Im Wasser wird ein solches Ei alle möglichen Lagen einnehmen können, da in Bezug auf die Schwerkraft sich alle seine Axen gleichartig verhalten. Das Ei ist homaxon.

Als Beispiel verweise ich auf die Eier der meisten Echinodermen. An ihnen wüsste ich, nachdem die Richtungskörper hervorgeknospt und von der Oberfläche abgefallen sind (Figur 4) nicht wie es möglich wäre, an irgend einem Merkmal eine Eiaxe vor den übrigen besonders zu kennzeichnen.

Eine besondere Eiaxe wird nun um so deutlicher unterscheidbar, je mehr der Dotterreichthum wächst, da sich jetzt gewöhnlich auch in einem entsprechenden Maasse eine Ungleichheit in der Materialvertheilung ausbildet.

Wir sehen, wie an der Oberfläche einer Eihälfte sich die eigentlich active protoplasmatische Substanz relativ frei von Nahrungskörnchen erhält, während in der entgegengesetzten Eihälfte der Nahrungsdotter immer massenhafter angehäuft wird. Dies kann so weit gehen, dass, wenn die Dotterkörner und Schollen eine ansehnliche Grösse erreichen und dicht aneinander gepresst sind, die protoplasmatische Substanz zwischen ihnen nur noch in Form feinerer Scheidewände oder auf dem Durchschnitt in Form eines zarten Netzwerks bestehen bleibt (Fig. 1—3). Somit sind jetzt an der Eikugel in Folge der verschiedenartigen Vertheilung der beiden Dottersubstanzen zwei ungleichmässig entwickelte und leicht erkennbare Pole entstanden, 1) der formative oder animale Pol *(A)*, an welchem sich der Bildungsdotter in mehr oder minder reichem Maasse ansammelt, und 2) der durch seinen Dotterreichthum ausgezeichnete vegetative Pol *(V)*. Aus der ursprünglich homaxonen ist jetzt eine monaxone Eiform entstanden. Bei dieser hat sich gleichzeitig auch der Schwerpunkt verändert. Denn wenn man Eier, welche die eben beschriebene Beschaffenheit in ausgeprägter Weise zeigen, in Flüssigkeiten bringt und auf ihre Gleichgewichtslage untersucht, ist stets der animale Pol nach oben gerichtet; die Eiaxe nimmt eine lothrechte Stellung ein, der Schwerpunkt ist ein

excentrischer, indem er aus dem Centrum auf der Eiaxe mehr oder minder nach dem vegetativen Pole zu verschoben worden ist. Wir können daraus schliessen, dass im allgemeinen dem Bildungsdotter ein geringeres specifisches Gewicht zukommt als dem Nahrungsdotter. Nirgends tritt wohl diese Thatsache auffälliger hervor, als bei den Eiern der Vögel, bei denen der Bildungsdotter in Form einer Scheibe dem Nahrungsdotter aufliegt. Man mag ein Hühnerei drehen und wenden, wie man will, es wird die Keimscheibe stets und sofort in aller kürzester Zeit die höchste Stelle der Kugel einnehmen.

In manchen Thierstämmen, wie z. B. bei den Mollusken, kann man bei Vergleichung verschiedener Arten verfolgen, wie sich allmählich der Gegensatz zwischen animalem und vegetativem Pole immer schärfer ausprägt.

Bei den relativ kleinen Eiern der Tellerschnecken (Fig. 15) ist, wie wir der Arbeit von Rabl entnehmen, eine deutliche polare Differenzirung ausgeprägt, indem der animale Pol und die animale Hälfte des Keimes von kleinen, der vegetative Pol und die vegetative Hälfte von groben Dotterkörnchen eingenommen werden. Im auffallenden Lichte erscheint daher der animale Pol weisslich, der vegetative gelb. Eine scharfe Grenze zwischen beiden existirt jedoch nicht; vielmehr gehen sie unmerklich und continuirlich in einander über.

Bei den Heteropoden und Pteropoden markirt sich der Gegensatz zwischen animalem und vegetativem Eipol schon schärfer, so namentlich bei Cymbulia (Fig. 1 u. 2). Hier sammelt sich an ersterem eine Scheibe von fast ganz homogenem Protoplasma an, in welchem der grosse Furchungskern eingebettet ist. Der Gegensatz wird um so auffallender, als der vegetative Haupttheil des Eies aus besonders grossen Dotterkörnern zusammengesetzt ist.

Die Endstufe des Sonderungsprocesses wird dann bei den Cephalopoden erreicht, deren voluminöser gewordene Eier dem meroblastischen Typus angehören. Hier hat sich am äussersten Pole eine Scheibe von Bildungsdotter (wie bei Cymbulia) abgesondert; während aber bei letzterer noch das ganze relativ kleine Ei sich theilt, bleibt der Furchungsprocess bei den Cephalopoden bloss auf den Bildungsdotter beschränkt, der dotterhaltige Haupttheil des Eies aber bleibt ungetheilt, weil die Kräfte des spärlich vorhandenen activen Protoplasma gleichsam nicht ausreichen, um das allzu massenhaft angesammelte passive Dottermaterial zu bewältigen und in kleinere Stücke zu zerlegen.

Im Stamme der Wirbelthiere bilden die Eier der Amphibien ausser denjenigen der Cyclostomen und Ganoiden einen Übergang zu den meroblastischen Eiern der Fische, Reptilien und Vögel. Auch ist hier in ähnlicher Weise wie bei den Mollusken demonstrirbar, dass sich allmählich bei einigen Arten am animalen Pole Protoplasma reichlicher ansammelt, und dass sich dieses bei anderen Arten zu einer Keimscheibe absondert, an welcher sich allein der Furchungsprocess abspielt. Bei Fischen, Reptilien und Vögeln entwickelt sich überall eine deutlich gesonderte Keimscheibe; bei den Amphibien aber macht sich am animalen, durch seine Pigmentirung characterisirten Pole eine reichlichere Protoplasmaansammlung, welche man erwarten sollte, nicht sofort bemerkbar. Auf mikroskopischen Durchschnitten scheinen die Dotterplättchen in der ganzen Eimasse gleichmässig vertheilt zu sein; nur sind sie, wie Will [1]) bemerkt, am dunklen Eipol von der geringsten Grösse. Gleichwohl weisen verschiedene andere Umstände darauf hin, dass die animale Eihälfte der Amphibien die protoplasmareichere ist und insofern der Keimscheibe meroblastischer Eier, wie z. B. des Hühnereies entspricht. Man darf dies schliessen 1) aus dem eigenthümlichen Verlauf des Furchungsprocesses, der rascher erfolgenden Theilung der animalen Zellen, und 2) aus dem verschiedenen specifischen Gewicht der dunklen und der hellen Hemisphäre. Die erstere ist, wie aus Versuchen von Roux und Born (loco cit.) hervorgeht, schon vor der Befruchtung die leichtere.

Unbefruchtete Froscheier, wenn sie in Wasser gebracht werden, drehen sich, bis dass die Eiaxe lothrecht steht. „Nur geschieht diese Drehung viel langsamer als bei den befruchteten. Während diese verlagert nur wenige Minuten brauchen, um den dunklen Pol nach oben zu richten, dauert es, bis alle unbefruchteten Eier in einer Schale mit Wasser sich vollkommen gedreht haben, oft 5—6 Stunden.“ Ferner hat Roux gefunden, dass „auch Froscheier, welche noch nicht in den Uterus übergetreten waren, und noch der Gallerthülle entbehrten, ja selbst noch ganz unfertige Eier des Eierstocks von erst der halben Grösse der Norm die Drehung zeigten, sobald sie in eine Flüssigkeit von geeignet hohem specifischem Gewichte, um darin schwimmen zu können, gebracht wurden. Durch Kochen abgetödtete Eier verlieren diese Eigenschaft nicht. Wenn solche aus der Gallerthülle, sofern solche schon vorhanden, ausgelöst und in eine als Vehiculum verwendete

[1]) Will, Über die Entstehung des Dotters und der Epithelzellen bei den Amphibien und Insecten. Zoologischer Anzeiger 1884 Nr. 167.

Mischung von Wasserglas und Wasser gelegt wurden, drehten sie sich mit dem schwarzen Pole nach oben und kehrten nach jeder künstlichen Umwendung in ihre alte Lage rasch zurück." Wenn wir aus einem geringeren specifischen Gewicht auf eine reichlichere Protoplasmaansammlung am animalen Pole der Amphibieneier schliessen, werden wir wohl kaum einen Fehlschluss thun, da wir in zahlreichen Fällen direct sehen können, wie das eine durch das andere bedingt wird.

Der Vertheilung des Dottermaterials in den Eizellen ist schon oftmals nach verschiedenen Richtungen hin Beachtung geschenkt worden. So hat Balfour[1]) vor kurzem dieselbe zur Classification der Eier benutzt, indem er 3 Typen unterscheidet, einen alecithalen, telolecithalen und centrolecithalen. Alecithal nennt er Eier mit geringer gleichmässig vertheilter Menge von Nahrungsdotter und aequaler Furchung, telolecithal sind Eier mit polarer Differenzirung in Folge der Ansammlung der Dotterkörner am vegetativen Pol, beim centrolecithalen Typus endlich ist das Dottermaterial, wie wir es sehr häufig bei den Arthropoden beobachten, im Centrum angesammelt und von einer mehr oder minder dicken Schicht feinkörnigen Protoplasmas, dem Keimblastem Weismanns, ringsum gleichmässig eingehüllt.

Schon vor Jahren hat Jäger[2]), worauf Rauber aufmerksam macht, die Dottervertheilung mit der Schwerkraft in Beziehung gebracht. Er meint, dass unter dem Einfluss der Erd-Schwere eine Sortirung der Keimprotoplasmabestandtheile in leichtere und schwerere stattfinde, und nennt diesen Process die geocentrische Differenzirung der Eier, die unterscheidbar werdende Eiaxe aber nennt er die geocentrische. Jäger vergleicht das Keimprotoplasma, welchem er einen hohen Wassergehalt zuschreibt, einer Flüssigkeit, in welcher sich bei ruhigem Stehen die darin suspendirten Theile genau in der Ordnung ihres specifischen Gewichts geocentrisch differenziren. Den geocentrischen Differenzirungsprocess betrachtet er als einen sehr bedeutungsvollen und er misst ihm einen so weitgehenden Einfluss auf alle Entwicklungsvorgänge zu, dass er zu dem Schluss kommt: die Befruchtung ist weder die einzige, noch die allgemeinste Entwicklungsursache, sondern die geocentrische Differenzirung des Dotters durch die Erdschwere ist nicht

---

[1]) Balfour, Handbuch der vergleichenden Embryologie. Bd. I 1880.

[2]) G. Jäger, Zoologische Briefe. XVII. Brief pag. 384—391.

bloss ebenso nöthig, sondern sie ist auch die allgemeinste Entwicklungsursache, die in manchen Fällen (Parthenogenesis) völlig ausreicht, aber in der Mehrzahl der Fälle durch die Wirkung der Befruchtung unterstützt werden muss". Jäger ist zu der Überzeugung gelangt, dass die Schwerkraft der Zeit nach und auch dem Rang nach die erste morphogenetische Kraft bei der Ontogenese ist.

Dieser Anschauung, sowie überhaupt dem Versuch Jägers, die Entstehung telolecithaler Eier einzig und allein aus dem Einfluss der Schwerkraft zu erklären, bin ich nicht in der Lage beizustimmen. Wie eine Prüfung aller Thatsachen lehrt, kann es sich hier nicht bloss um eine einfache mechanische Erscheinung handeln, um eine Sortirung verschieden schwerer Theile nach ihrem specifischen Gewicht etwa nach der Weise wie eine Mischung von Wasser und Oel sich in zwei Lagen sondert. Wenn auch selbstverständlich von vornherein zugegeben werden muss, dass die Eisubstanzen von verschiedenem Gewichte unausgesetzt der Einwirkung der Schwerkraft unterworfen sind, so braucht deswegen eine Sortirung nach dem Gewicht doch nicht stattzufinden, solange noch andere Kräfte in der Eizelle wirksam sind und die Anordnung der Theile bestimmen. Solche Kräfte aber sind in jeder Zelle vorhanden. Nicht nur ist das Protoplasma eine mit complicirten Kräften ausgestattete organisirte Substanz, sondern es finden auch zwischen ihr und dem Kern Wechselbeziehungen statt, durch welche die Dotterkörner verhindert werden können, eine ihrer Schwere entsprechende Lage einzunehmen.

Durch Thatsachen lässt sich dieses beweisen. Eine Keimscheibe tritt erst an den reifen und befruchteten Eiern der Fische auf, an den Ovarialeiern, obwohl diese dasselbe Protoplasma und dasselbe Dottermaterial enthalten, fehlt sie, indem die Theile noch scheinbar gleichmässig im Ei vertheilt sind. Warum hat hier die Schwerkraft, welcher das Ei im Ovarium doch ebenso gut unterworfen ist, nicht auch eine Sortirung des verschieden schweren Materials zu Stande gebracht? Warum verweilt bei den unreifen Eiern der Thiere das Keimbläschen, obwohl es, aus flüssigeren Theilen bestehend, specifisch leichter ist, in der Mitte des Dotters und steigt erst bei Beginn der Eireife an die Oberfläche empor? Warum sammelt sich bei den dotterreichen Eiern der Arthropoden der Bildungsdotter nicht als Scheibe an der Oberfläche an, sondern umhüllt ringsum den central gelegenen Dotter?

Solche Beispiele, die sich leicht vermehren lassen, sind Finger-

zeige, dass ausser der Schwere noch andere, sogar wirkungsvollere, in den Eisubstanzen selbst gelegene Kräfte die Anordnung der Theile bestimmen. Wir sind hier sogar in der Lage, zwei in der Eizelle sich abspielende Entwicklungsprocesse anzuführen, durch welche ganz offenbar die Entstehung telolecithaler Eier, wenn nicht ausschliesslich bedingt, so doch wenigstens in hohem Grade gefördert wird, ich meine 1) die Bildung der Richtungskörper und 2) den Befruchtungsact.

1) Bei dem Process, welchen ich in einer andern Arbeit [1]) als die Reifung des Eies bezeichnet habe, rückt das Keimbläschen aus seiner centralen Lage heraus und nach der Oberfläche des Eies empor und zwar wandert es nach dem animalen Pole, wenn ein solcher schon vorher ausgeprägt war; ist dies aber nicht der Fall, so wird diejenige Stelle der Eioberfläche, zu welcher der Kern emporsteigt, zum animalen Pole umgebildet. Während der Wanderung löst sich das Keimbläschen auf und lässt aus einem kleinen Theil seines Inhalts, aus seinen activen Kernbestandtheilen die Richtungsspindel entstehen, welche einen in Theilung begriffenen Kern vorstellt. Wie nun schon im Allgemeinen der Kern einen Mittelpunkt für Protoplasmaansammlungen abgibt, so gilt dies noch viel mehr für den sich theilenden Kern; denn seine beiden Pole, die Spindelenden, verhalten sich wie 2 Attractionscentren, um welche sich das Protoplasma aus der Umgebung anhäuft. Die Richtungsspindel kommt daher auch bei Eiern mit gröberen Dotterkörnern alsbald in eine Menge von homogenem Protoplasma zu liegen, welches um die beiden Spindelenden radiär zu zwei Strahlenfiguren angeordnet ist und aus dem Bereich des Kerns die Dotterconcremente gleichsam herausgedrängt hat. Mit dem Kern resp. mit der Spindel geräth nun diese Protoplasmaansammlung an die Eioberfläche, an den animalen Pol, an welchem bald durch einen Knospungsprocess die beiden Richtungskörperchen oder Richtungszellen hervorsprossen.

Namentlich bei den Eiern der Mollusken lässt sich gut verfolgen, wie auf diese Weise erst während der Eireife eine Protoplasmaansammlung am animalen Pole entsteht (Fig. 15, Fig. 1 u. 2). In anderen Thierstämmen wird bei Untersuchung der Reifeerscheinungen an nahrungsdotterhaltigen Eiern in Zukunft noch besonders darauf zu achten sein, in wie weit die Bildung eines animalen Poles durch das Emporsteigen des Kerns und das Hervorknospen der Richtungskörper beeinflusst wird.

---

[1]) O. Hertwig, Beiträge zur Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies. Morphol. Jahrbuch. Bd. I. 1875.

2) Als einen zweiten Factor, welcher auf eine schärfere Sonderung des Bildungs- und Nahrungsdotters hinwirkt, führte ich den Befruchtungsact an. Sowie nämlich der Samenfaden in das Ei eingedrungen ist und der Spermakern sich mit dem Eikern verbunden hat, wird der aus der Verschmelzung neu entstandene Furchungskern zu einem in Wirksamkeit tretenden Kraftcentrum in der Zelle, um welches sich in radiärer Richtung die Plasmatheilchen gesetzmässig anordnen. Es entsteht vorübergehend eine Sonnenfigur, deren Centrum der Kern ist.

In kleinen alecithalen Eiern — um die Balfour'sche Nomenclatur zu gebrauchen — äussert sich die vom central gelegenen Kern ausgehende Kraftwirkung in der gesammten Eisubstanz in dem Maasse, dass alle Plasmatheilchen vom Centrum bis zur Kugeloberfläche radiär gerichtet werden. In Folge dessen müssen auch die passiven Dotterkörnchen im Plasma sich zu radiären Reihen zusammendrängen. (Fig. 4.)

Bei den grösseren telolecithalen Eiern wird vom befruchteten Kern nur das in seiner Umgebung gelegene Dottermaterial beeinflusst. Da nun der Kern sich stets in der Nähe des animalen protoplasmareichern Poles befindet, bewirkt er hier, wenn er durch die Befruchtung in Wirksamkeit tritt, dass in seiner Umgebung sich das Protoplasma noch mehr concentrirt, und dass die Dotterkörner aus der animalen Eihälfte zurückweichen. So nimmt, wie ein Vergleich von Fig. 1 u. 2 lehrt, bei Cymbulia die Menge des Bildungsdotters nach der Befruchtung zu und zeigt gleichzeitig auch eine veränderte scheibenförmige Anordnung. Desgleichen ist es von den Eiern vieler Knochenfische bekannt, dass erst in Folge der Befruchtung eine deutlich wahrnehmbare Keimscheibe sich bildet und schärfer vom Nahrungsdotter absetzt.

Dadurch dass der Befruchtungsvorgang, wie die angeführten Beispiele beweisen, auf die reichlichere Ansammlung des Bildungsdotters am animalen Pol einwirkt, wird er gleichzeitig auch den Unterschied im specifischen Gewicht zwischen animaler und vegetativer Eihälfte steigern. So erkläre ich es mir, dass, wie allgemein angegeben wird, die befruchteten Froscheier sich energischer und rascher drehen als die unbefruchteten[1]). So beantworte ich

[1]) Roux brachte die Froscheier mit ihrer Hülle in eine Flüssigkeit von geeignet hohem specifischem Gewicht, um sie schwimmend zu erhalten. Er wollte erkennen, ob der Umstand, dass die befruchteten Eier sich in ein bis fünf Minuten innerhalb der Gallerthülle umdrehen, während die unbefruchteten Eier ebenso vieler Stunden dazu

zugleich eine Frage, welche Rosenbach[1]) in der schlesischen Gesellschaft für vaterländische Cultur aufwarf bei Gelegenheit einer Discussion, welche sich an den Vortrag von Born anknüpfte. „Da sich die Froscheier — äusserte Rosenbach — vor der Befruchtung, wenn auch viel langsamer als nach der Befruchtung drehen, so kann an den geschilderten Vorgängen nicht die Schwerkraft den alleinigen Antheil haben, sondern es müssen in Folge der Befruchtung noch andere Vorgänge eintreten, welche jene schnellere Drehung des Eies bewirken. Es kann dies entweder dadurch geschehen, dass Flüssigkeit durch die Gallerthülle in das Ei tritt, was wohl nicht wahrscheinlich ist, oder es muss das eintretende Spermatozoon gewisse vitale Vorgänge in dem Eie hervorrufen, welche uns noch unbekannt sind.“

Dass letztere Alternative die richtige ist und welcher Art die durch die Befruchtung hervorgerufenen vitalen Vorgänge sind, glaube ich hier klar gezeigt zu haben.

II. Abschnitt.

Ueber die Lage des befruchteten Kerns im thierischen Ei.

Die Lage des befruchteten Kerns ist im thierischen Ei, wie mir scheint, eine streng gesetzmässige und wird hauptsächlich durch zwei Factoren bestimmt, 1) durch die äussere Form, welche das Eimaterial angenommen hat und 2) durch die Art und Weise, wie Bildungsdotter und Nahrungsdotter in der Zelle vertheilt sind.

Fassen wir zunächst die kugelig geformten Eier in das Auge.

Bei Eiern des alecithalen Typus, welche, wie es bei den Echinodermen der Fall ist, weniger und gleichmässig vertheilten Dotter besitzen, stellt sich der Kern nach der Befruchtung genau in

---

benöthigen, in Verschiedenheiten des unbefruchteten und des befruchteten Eies beruhe. Es zeigte sich, dass jetzt befruchtete und unbefruchtete Eier sich beide innerhalb weniger Secunden drehten und fest einstellten. Es schien, dass die befruchteten Eier dabei noch ein wenig rascher, im Mittel etwa in sechs, die unbefruchteten im Mittel in zehn Secunden ihre feste Einstellung nach grösster Entfernung von der Gleichgewichtslage erreichten.

[1]) Verhandlungen der medic. Section der schlesischen Gesellschaft für vaterländische Cultur. Sitzung vom 4. April 1884 pag. 12.

das Centrum der Zelle und wird hier zum Mittelpunkt einer strahligen Anordnung des Protoplasma, welche sich bis an die Oberfläche des Eies ausdehnt. Im telolecithalen Typus dagegen nimmt der Kern niemals eine centrale Lage ein. Je mehr sich eine Sonderung in eine protoplasmareichere und in eine dotterreichere Eihälfte vollzieht, um so mehr giebt der Kern seine ursprüngliche centrale Stellung auf und wandert nach dem animalen Pole empor, also in entgegengesetzter Richtung vom Schwerpunkte, welcher an der Eiaxe nach abwärts steigt.

So findet man beim Froschei, wo die Sonderung noch weniger ausgesprochen ist, den Furchungskern stets oberhalb der Aequatorialebene, bei reifen Mollaskeneiern wie bei Cymbulia liegt er ganz in der homogenen Protoplasmaansammlung des animalen Poles, bei meroblastischen Eiern hat man ihn in der Substanz der Keimscheibe, also gleichsam in der Rindenschicht der stark vergrösserten Eizelle aufzusuchen. Hier ist er in das Centrum der Scheibe wie bei den Eiern der Echinodermen in das Centrum der Kugel eingebettet.

Entsprechenden Verhältnissen begegnen wir bei oval geformten Eiern. Ist in ihnen der Nahrungsdotter gleichmässig vertheilt, so wird die Lage des Kerns durch den Mittelpunkt der die beiden Pole verbindenden Längsaxe bestimmt, wofür ich als Beispiel die Eier der Nematoden anführe. Dieses Lageverhältniss erfährt auch dann keine Aenderung, wenn der Dotter sich im Centrum ansammelt und nach aussen von einer gleichmässigen Rindenschicht homogenen Protoplasmas umhüllt wird. Auch dann bleibt der Kern im Centrum, im Nahrungsdotter, liegen, wahrscheinlich, weil keine Stelle der Rindenschicht vor der anderen durch eine reichlichere Ansammlung von Protoplasma bevorzugt ist. Die Folge ist: Eintretende Kerntheilung ohne anschliessende Zelltheilung. Dagegen wird sofort ein Lagewechsel des Kerns hervorgerufen, sowie sich der Dotter an einem Pole des ovalen Körpers concentrirt. Als Beispiel diene das Ei eines Anneliden, der Fabricia, welches in Haekels Gastraeatheorie [1]) beschrieben und abgebildet ist. Hier sehen wir den Kern auf der Längsaxe des Eies nach dem protoplasmareicheren Pole verschoben. Daher wird später die Furchung eine inaequale, in eine kleinere protoplasmatische und in eine grössere dotterreichere Zelle.

---

[1]) Haeckel, die Gastrula u. die Eifurchung der Thiere. Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft. Bd. IX.

In derartigen und ähnlichen Befunden offenbart sich uns nun ohne Zweifel ein gesetzmässiges Wechselverhältniss zwischen Kern und Protoplasma. Dasselbe glaube ich in wenigen Worten richtig zu bezeichnen, wenn ich sage: Der Kern, von welchem auf das Protoplasma Kraftwirkungen ausgehen, wie die strahlenförmige Anordnung der Plasmatheilchen um ihn lehrt, sucht stets die Mitte seiner Wirkungssphäre einzunehmen.

III. Abschnitt.

Ueber das Gesetz, durch welches der Verlauf der ersten Furchungsebenen bestimmt wird.

Die im ersten und zweiten Abschnitt dargestellten Verhältnisse geben uns eine Grundlage ab für das Verständniss und die Beurtheilung der Zelltheilungen. Dieselben beginnen mit Veränderungen des Kerns. Während dieser ursprünglich ein einheitliches Kraftcentrum mit gesetzmässig bestimmter Lage vorstellt, bilden sich einige Zeit vor Beginn der Eitheilung zwei getrennte und einander entgegengesetzte Kraftcentra an ihm aus. Es geht der Kern zuerst in eine ovale, dann spindelige Gestalt über, wobei die Kraftcentra, um welche sich die Plasmatheilchen in 2 Strahlenfiguren anordnen, wie Eisenfeilspähne um die Spitzen eines Magneten, an die Pole des ovalen und die Spitzen des spindeligen Körpers zu liegen kommen.

Eine Linie, welche die beiden Kraftcentra verbindet, wollen wir als die Kernaxe bezeichnen. Sie ist wichtig, da durch sie auch die Lage der Theilungsebene bestimmt wird. Denn letztere muss erstere immer senkrecht und rechtwinklig schneiden. Es ist daher a priori richtiger, anstatt nach der Ursache für die Richtung der Theilungsebene nach der Ursache, von welcher die Stellung der Kernaxe abhängt, zu forschen, da diese die andere bedingt.

Für die Stellung der Kernaxe finde ich denselben Factor Ausschlag gebend, von welchem wir im 2ten Abschnitt schon die Lage des Furchungskerns beherrscht gesehen haben, nämlich die Form und das Massenverhältniss des im Ei gleichmässig oder ungleichmässig vertheilten Protoplasma. Ich formulire gleich den Satz, welchen ich durch Beispiele noch weiter zu erhärten haben werde, in folgender Weise:

An dem Furchungskern bilden sich die zwei vor jeder Theilung auftretenden Kraftcentra in der Richtung der grössten Protoplasmaansammlungen der Zelle.

Zur Veranschaulichung und zum Beweis dieses Satzes wüsste ich kein besseres Beispiel anzuführen, als die höchst interessanten Erscheinungen, welche Auerbach[1]) an den Eiern zweier Nematoden, der Ascaris nigrovenosa und des Strongylus auricularis beobachtet hat.

Das Nematodenei hat eine ovale Gestalt, so dass zwei Pole an ihm zu unterscheiden sind, welche bei der Befruchtung eine entgegengesetzte Rolle spielen. An dem einen Pole nämlich, welcher der Keimstätte des Eischlauches zugewendet ist, bilden sich die Richtungskörper und entsteht der Eikern, an dem anderen, nach dem Uterus-Ausgang zu gelegenen Pol dagegen findet die Befruchtung und das Eindringen eines Spermatozoon statt, hier erscheint der Spermakern.

Beide Kerne wandern dann unter gleichmässiger Grössenzunahme und in gerader Richtung, welche mit der Eiaxe zusammenfällt, auf einander zu, treffen sich in der Mitte der Eiaxe, nachdem sie zu zwei ziemlich ansehnlichen Bläschen angewachsen sind, legen sich fest zusammen und platten sich an den Berührungsflächen ab. Die abgeplattete Berührungsfläche fällt anfänglich mit der Queraxe des Eies zusammen. Aber nur vorübergehend. Es erfolgt jetzt ein ausserordentlich interessantes Phänomen.

„Das Kernpaar fängt an — ich beschreibe hier mit Auerbachs eignen Worten — sich zu drehen, und zwar um eine Achse, welche, die Berührungsfläche halbirend, auf der Längsachse des Eies senkrecht und im comprimirten Ei auch auf dem Objectglase immer senkrecht steht. Die anfänglich quer liegende Berührungsfläche bildet successive einen immer kleineren Winkel mit der Längsaxe des Eies. Nach ungefähr 12 Minuten beträgt dieser Winkel 45 Grad und nach einem etwa ebenso grossen Intervall befindet sich die Berührungsstätte in der Längsaxe des Eies. Damit hat diese rotatorische Bewegung, welche eine ganz constante Erscheinung ist, ihr Ende erreicht. Die Richtung, in welcher die Drehung unter dem Mikroskope erfolgt, ist verschieden, bald im Sinne eines Uhrzeigers, bald im entgegengesetzten“.

---

[1]) L. Auerbach, Organologische Studien. Zweites Heft. Zur Characteristik u. Lebensgeschichte der Zellkerne. Breslau 1874.

Gleich nach vollendeter Drehung strecken sich die conjugirten Kerne in der Weise, dass die Kernaxe in der Abplattungs- und Verschmelzungsfläche liegt. Dabei erscheinen mit zunehmender Deutlichkeit an den Polen der Kernaxe, welche die Attractionscentren sind, zwei Strahlenfiguren im Protoplasma. Wenn dann später die Theilung erfolgt, so schneidet die Theilungsebene rechtwinklig die Kernaxe, welche zugleich in der Richtung der Eiaxe liegt.

Was hat die Rotationsbewegung des Kernpaares zu bedeuten? Für dieselbe bietet sich nach meiner Meinung nur in folgender Weise eine befriedigende und erschöpfende Erklärung. Von der Substanz der conjugirten Kerne ist je die Hälfte für einen Tochterkern bestimmt, was nach den schönen Untersuchungen van Beneden's[1]) sich sogar bis in Einzelheiten verfolgen läst. Dies ist nur möglich, wenn das Kernpaar halbirt wird durch eine Ebene, welche ihre Berührungsfläche rechtwinklig schneidet. Folglich müssen sich an zwei opponirten Puncten der letzteren die Attractionscentren entwickeln. Nun trifft ursprünglich die Berührungsfläche des männlichen mit derjenigen des weiblichen Kerns in einer Querebene des Eies zusammen, da beide von den Eipolen aus in gerader Richtung sich entgegen gewandert sind. Folglich müssten auch die Attractionscentren des sich theilenden Kerns in die Querebene zu liegen kommen und hieraus würde sich wieder ergeben, dass auch die erste Theilungsebene das Ei der Länge nach halbiren müsste. Es würde bei dieser Stellung der Kernaxe die Durchfurchung mit der grössten Arbeit verbunden sein, da in unmittelbarer Nähe der Attractionscentren nur die kleinsten Protoplasmamengen gelegen, dagegen die an den Polen befindlichen Hauptmassen der Wirkungsphäre des Kerns mehr entrückt wären.

Ein derartiges für die Theilung denkbar ungünstiges Verhältniss wird nun dadurch abgeändert, dass nach unserer Theorie dem Protoplasma und Kern, indem sie wechselseitig auf einander einwirken, die Fähigkeit zukommt, ihr Lageverhältniss zu reguliren. Die durch den Befruchtungsverlauf bedingte Ausgangsstellung des copulirten Kernpaares, welche eine für die Theilung durchaus unzweckmässige ist, ändert sich, sowie sich an ihm die 2 Attractionscentra ausbilden. Dieselben werden durch Rotation so eingestellt, dass sie in der Richtung der grössten Protoplasma-

---

[1]) Van Beneden, Recherches sur la maturation de l'oeffécondation et division cellulaire. 1883.

ansammlungen zu liegen kommen, wodurch die Kernaxe mit der Eiaxe zusammenfällt. Daher die Nothwendigkeit des von Auerbach entdeckten interessanten Rotationsphänomens. Durch dasselbe geräth die grösste Ansammlung des Protoplasma in die Nähe der beiden Wirkungssphären des Kerns, während sich in der Gegend der Theilungsebene die geringste Menge desselben befindet.

Bei ungleichartiger Vertheilung des Protoplasma und Nahrungsdotters im ovalen Eikörper, wie ich ihn oben von Fabricia beschrieben habe, ist die Kernspindel excentrisch gelagert und dem protoplasmatischen Pole genähert. In Folge dessen entstehen zwei ungleich grosse Theilproducte.

Sehen wir nun, ob dieses Princip auch in anderen Fällen den Ausschlag giebt, indem wir die Eier mit äqualer, mit inäqualer und partieller Furchung der Reihe nach untersuchen.

In kugligen Eiern mit gleichmässig vertheiltem Dottermaterial und central gelagertem Kern verhalten sich alle Durchmesser gleichwerthig und würde sich daher die Kernaxe auch in jeden beliebigen Durchmesser einstellen können. Doch muss ich hier die neue Möglichkeit noch zugeben, dass die Austrittsstelle der Richtungskörper die Bildung der ersten Theilungsebene beeinflusst. Bei den Echiniden ist dies schwer festzustellen, da die Richtungskörper schon im Ovarium gebildet und bald ganz abgestossen werden. Jedenfalls aber tritt nach vollzogener Zweitheilung eine Beschränkung in den möglichen Kernstellungen ein. Weil jetzt die Theilungsproducte Halbkugeln sind und als solche kürzere und längere Durchmesser besitzen, kann die Kernaxe nur in einen der letzteren zu liegen kommen. Niemals sehen wir, dass sich der Kern mit seiner Axe senkrecht zu der planen Fläche der Halbkugel streckt, und dass die zweite Theilungsebene der ersten parallel verläuft. Ein solches Furchungsschema findet sich nirgends realisirt. Stets lagert die Kernachse horizontal zur Grundfläche der Halbkugel in einem der vielen hier möglichen Längsdurchmesser. Die zweite Theilungsebene muss daher mit Nothwendigkeit die erste rechtwinkelig schneiden. Die Theilungsstücke müssen Quadranten sein.

In den vier Quadranten endlich ist den Kernen nur eine einzige mögliche Stellung in der Richtung des einzigen Längsdurchmessers der Zelle gerade so wie in den ovalen Eiern der Nematoden angewiesen. Die im dritten Cyclus gebildeten Theilungsebenen müssen daher rechtwinklig die zwei zuerst entstandenen schneiden.

So erfolgen nach unserem Princip die einzelnen Theilungsstadien mit ihren verschiedenen so regelmässig zu einander angeordneten Ebenen aus einer inneren Nothwendigkeit ohne Zuhülfenahme von aussen einwirkender Kräfte.

Auch die Eier mit inäqualer und partieller Furchung setzen jetzt keine Schwierigkeiten einer Erklärung entgegen. Bei den inäqualen Eiern hat sich, wie oben gezeigt wurde, die active protoplasmatische Substanz, welche zugleich die specifisch leichtere ist, am animalen und oberen Pole sei es in Form einer Halbkugel oder einer Scheibe angesammelt und hat dadurch auch den Kern gezwungen, seine centrale mit einer excentrischen Lage zu vertauschen. Zwischen Kern und protoplasmatischer Scheibe findet dem Massenverhältniss entsprechend eine stärkere Wechselbeziehung statt als zwischen ihm und der im Dotter spärlicher vertheilten Plasmasubstanz. Die Stellung des Kerns, wenn er sich zur Theilung anschickt, wird daher durch die horizontal ausgebreitete Plasmascheibe bedingt. Die Kernaxe wird also jetzt nicht mehr wie bei den Eiern der Echinodermen jeden beliebigen Durchmesser der Eikugel einnehmen können, sondern sich dem animalen Pole genähert horizontal stellen. In der Horizontalebene selbst aber kann sie, wenn die Protoplasmaansammlung einer kreisrunden Scheibe entspricht, nach einem der vielen möglichen Längsdurchmesser orientirt sein. Die erste Theilungsebene kann jetzt einzig und allein eine verticale, vom animalen nach dem vegetativen Pole gerichtete sein, wobei sie mit der geocentrischen Axe zusammenfällt.

Durch den ersten Theilungsact erhalten wir zwei Halbkugeln, die aber aus einem protoplasmareicheren und einem protoplasmaärmeren Quadranten zusammengesetzt sind. Dadurch ist die Kernachse in ihrer Stellung wieder fest bestimmt. Sie muss mit der Längsaxe des protoplasmatischen Quadranten, mit welchem bei der Zelltheilung die stärkere Wechselbeziehung stattfindet, zusammenfallen, also wieder horizontal liegen. Die zweite Furchungsebene muss lothrecht stehen und die erste rechtwinkelig schneiden. Dadurch entstehen 4 durch verticale Theilungsebenen getrennte Furchungsstücke.

In einem Quadranten eines äqual sich furchenden Eies fällt die Axe des Kernes, wie wir früher gesehen haben, mit der Längsaxe des Quadranten bei der Theilung zusammen. Hieraus sowie aus dem Umstand, dass bei inäqualen Eiern die 4 Quadranten zwei ungleichwerthige Pole besitzen, einen protoplasmatischen leichteren,

nach oben gerichteten und einen vegetativen, schwereren, nach abwärtsgekehrten, ergibt sich wieder eine genaue Orientirung der Kernaxe, sie ist der lothrechten parallel, der Kern liegt aber nicht wie bei äqualen Eiern im Mittelpunkt des Quadranten, sondern ist dem animalen Pole wegen seiner reicheren Protoplasmaansammlung genähert; die dritte Theilungsebene wird eine horizontale, fällt aber nicht mit dem Aequator der Eikugel zusammen, sondern ist nach dem animalen Pol mehr oder minder verschoben. So entsteht ein protoplasmareicheres aber kleineres und ein protoplasmaärmeres aber grösseres Theilproduct.

Auf die Verhältnisse der partiellen Furchung näher einzugehen dürfte überflüssig sein, da sie sich in der eben entwickelten Weise gleichfalls erklären lassen, wie denn die partielle Furchung auch nur eine weitere durch grössere Dotteransammlung und Sonderung veranlasste Modification der inäqualen Furchung vorstellt.

Zum Schlusse dieses Abschnittes noch einige Worte über die Orientirung der Furchungsebenen im Raume, welche sich nach dem Vorausgeschickten jetzt von selbst ergibt. Während bei den alecithalen Eiern die Furchungsebenen im Raume die verschiedensten Lagen einnehmen können, wie mein Versuch mit den Seeigeleiern gelehrt hat, gewinnen sie im telolecithalen Typus mit der Entstehung einer geocentrischen Axe eine genaue Orientirung in der Weise, dass die 2 ersten Furchen vertical verlaufen, die dritte Furche horizontal. Die Einstellung in der lothrechten und horizontalen wird um so genauer sein müssen, je mehr sich der Gegensatz zwischen animalem leichterem und vegetativem schwererem Pole ausgeprägt hat. Diese gesetzmässige Orientirung der Furchungsebenen, welche man einer directen Wirkung der Schwerkraft auf die Zelltheilung zugeschrieben hat, erklärt sich jetzt in einfachster Weise daraus, dass im telolecithalen Typus die active Protoplasmasubstanz am animalen Pole scheibenförmig in horizontaler Richtung ausgebreitet ist und dass schon hierdurch die Stellung der Furchungsspindel und der ersten und der folgenden Theilungsebenen regulirt ist.

IV. Abschnitt.

Erklärung der von Pflüger beobachteten abnormen Furchungs-Erscheinungen.

Jetzt setzen auch die von Pflüger beobachteten abnormen Furchungserscheinungen einer Erklärung keine Schwierigkeiten mehr entgegen.

Wenn die Froscheier in Zwangslage gebracht und so verhindert werden, im Ganzen zu rotiren, um die ihrem Schwerpunct entsprechende Lage einzunehmen, dann werden sich, wie auch Rauber an Forelleneiern direct gesehen hat, im Inneren der Kugel Umlagerungen der verschiedenen Substanztheile von geringerer und grösserer specifischer Schwere vollziehen, damit wieder eine neue Gleichgewichtslage herbeigeführt werde. Der Kern mit der sich um ihn ansammelnden protoplasmatischen Substanz wird wegen seiner geringeren specifischen Schwere immer bestrebt sein nach der höchsten Stelle des Eies hinaufzurücken in ähnlicher Weise, wie am Hühnerei die Keimscheibe sich stets nach oben lagert.

Born hat diesen Vorgang an Froscheiern, die sich in Zwangslage befanden, direct beobachtet und constatirt, dass der Kern bei Eiern, die im Theilungsstadium stehend geschnitten wurden, meist unter der höchsten Stelle des Eies liegt. Doch weiche ich in der Erklärung insofern von ihm ab, als er für die Veränderungen nur den Kern wegen seiner geringeren specifischen Schwere verantwortlich macht, während nach meiner Meinung auch das Protoplasma dabei eine Rolle spielt und zwar in der Weise, dass zwischen ihm und dem Kern Wechselwirkungen stattfinden. Zum Beleg meiner Ansicht weise ich noch einmal darauf hin, dass an protoplasmatischen alecithalen Eiern der befruchtete Kern weit entfernt davon eine oberflächliche Lage einzunehmen, sogar nach dem Centrum der Zelle hinwandert und sich hier einstellt.

Bei dieser Erklärung könnte es auffallend erscheinen, dass sich die unter abnorme Bedingungen gebrachten Froscheier äusserlich so wenig verändern. Warum findet, kann man fragen, nicht auch eine andere Anordnung der pigmentirten Rindenschicht in der Weise statt, dass sie nach aufwärts steigt?

Auch hier muss ich auf den schon früher einmal erörterten Punkt aufmerksam machen, dass es sich in den Erscheinungen, welche Gegenstand dieses Aufsatzes bilden, nicht bloss um einfache mechanische Verhältnisse, um eine Anordnung verschieden

schwerer Theile nach ihrem specifischen Gewicht handelt, sondern dass hierbei auch andere auf die Organisation einwirkende Factoren zu berücksichtigen sind. Wie ich schon in den vorhergehenden Capiteln den einen Punkt betont habe, dass zwar die Keimscheibe und überhaupt die animale Hälfte aller telolecithalen Eier der specifischen Schwere folgend sich nach oben richte, dass aber die Sonderung einer protoplasmareicheren leichteren von einer dotterreicheren schwereren Schicht von der Bildung der Richtungskörper und vom Befruchtungsact beeinflusst werden, so muss ich auch hier wieder darauf hinweisen, dass bei den in Zwangslage gebrachten Eiern die Umlagerung der Substanzen von verschiedenem specifischem Gewicht unter dem Einfluss der Befruchtung und der Zelltheilung vor sich geht.

Nach dem Befruchtungsact und während der Theilung ist eben der Kern ein Kraftcentrum, welches umordnend auf die Plasmatheile der weiteren und ferneren Umgebung einwirkt. Die Plasmasubstanzen sind daher zwischen den Dotterplättchen in Bewegung begriffen. Dies wird es begünstigen, dass Kern und benachbartes Protoplasma auch eine ihrer specifischen Schwere entsprechende Stellung dem Dotter gegenüber einnehmen, während entferntere Partieen des Eimateriales ihre ursprüngliche Anordnung mit grösserer Zähigkeit beibehalten.

Organische Processe so complicirter Natur bedürfen, um sich abspielen zu können, eines gewissen Zeitmaasses. Pflüger hat bei seinen Versuchen festgestellt, dass die Zeit, während welcher die Schwere in einer bestimmten Richtung auf den Zellinhalt einwirkt, auf das Endresultat von wesentlichster Bedeutung ist. Die Schwere wirkt nicht nur in den Momenten, wo sich die Zelltheilungen vollziehen, sondern sie beeinflusst continuirlich die Organisation, so dass die schliessliche Richtung der Zelltheilung aus der Summe aller Wirkungen resultirt, welche die Schwere in einer Reihe von Stunden auf den Zellinhalt ausgeübt hat. Pflüger führt zum Beweis folgendes Beispiel an: Wenn man einige Minuten vor Eintritt der zweiten Furchung das Ei verlagert, so dass die Furchungsaxe jetzt irgend einen Winkel mit der Richtung der Schwerkraft macht, so tritt die zweite Furchung genau so ein, als ob das Ei keine Veränderung seiner Lage erfahren hätte. Dann kann die Ebene der 2. Furchung jeden beliebigen Winkel mit der Richtung der Schwerkraft machen. „Hieraus folgt, dass die Arbeit, welche die Schwere in der Zeit von 2 Stunden im Ei verrichtet hat, nicht mehr beseitigt werden kann, dadurch, dass man dieselbe

Kraft nach Ablauf der 2 Stunden im anderen Sinne auf kurze Zeit wirken lässt." Nach unserer Erklärung kann in der kurzen Zeit Kern und Protoplasma keine den veränderten Verhältnissen entsprechende neue Stellung gewinnen.

In derselben Weise erklärt sich auch der Versuch von Roux. Wenn man befruchtete Froscheier in einen langsam rotirenden Centrifugalapparat bringt, wodurch der Schwerpunkt derselben ständig verlagert wird, so bildet sich die erste Furchungsebene wie bei normal sich entwickelnden Eiern. Bei wechselnder Einwirkung der Schwere können die verschiedenen Eisubstanzen keine neue Anordnung eingehen, daher behalten sie die ursprüngliche bei und entwickeln sich dementsprechend. Wird dagegen der Centrifugalapparat so rasch rotirt, dass die Schwerkraft durch die Centrifugalkraft aufgehoben und übercompensirt wird, dann stellen sich wie Roux und Rauber übereinstimmend gezeigt haben, die Eier mit dem vegetativen Pol centrifugal ein, d. h. bei continuirlicher Einwirkung der Centrifugalkraft haben die Eisubstanzen Zeit sich während der Entwicklung ihrer specifischen Schwere gemäss, der Dotter centrifugal, Protoplasma und Kern centripetal umzulagern.

Zum Beweis für die Richtigheit seiner Theorie, dass die Schwerkraft einen richtenden Einfluss auf die Theilungsebene ausübe, führt Pflüger auch aus dem botanischen Gebiete Beobachtungen von Leitgeb[1]) und Sadebeck[2]) über die Entwicklung von Marsilia an. Wurden die Sporen derselben in eine Lage gebracht, dass ihre Längsaxe mit der Horizontalen zusammenfiel, so zeigte sich eine Einwirkung der Schwerkraft ganz deutlich in der Weise, dass die erste Scheidewand oder die Basalwand unter allen Umständen horizontal war, also auf der Richtung der Schwerkraft senkrecht stand. Dann entwickelte sich die Wurzel stets aus der Erdwärts gekehrten Hälfte.

Auf eine Erklärung dieser Erscheinung kann ich, da mir eigene Erfahrungen fehlen, nicht eingehen. Auf jeden Fall aber können wir aus den Angaben der Botaniker schliessen, dass wir es hier nur mit einem speciellen Fall indirecter Einwirkung der

---

[1]) Leitgeb, Zur Embryologie der Farne. Sitzungsberichte der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften zu Wien. Mathemat. naturw. Classe. Bd. LXXVII 1878.

[2]) Sadebeck, Handbuch der Botanik, herausgegeben von Schenk 1881 pag. 210. Die Originalabhandlung stammt aus dem Jahre 1879.

Schwerkraft, nicht mit einem allgemeinen Gesetz, demzufolge die Schwerkraft auf die Zelltheilung einwirkt, zu thun haben. So bemerkt Leitgeb, dass auch bei Aufhebung der Schwerkraft die Sporen von Marsilia sich theilen und dass dann horizontal fixirte Sporen bei langsamer Rotation um eine horizontale Axe ihren Cotyledo nach verschiedenen Richtungen orientirt zeigen, gerade so wie in den von Roux an Froscheiern angestellten Versuchen. Nicht zu vergessen ist endlich die Stellung, welche Leitgeb selbst zu der uns hier beschäftigenden Frage in der ein Jahr später erschienenen Arbeit [1]) über Entwicklung der Farne einnimmt.

Einerseits opponirt er gegen zu weit gezogene Folgerungen Sadebecks hinsichtlich der Rolle, welche die Schwerkraft bei der Entwicklung der Farne spielen solle; andererseits sucht er durch genaues Studium der Polypodiaceen, einer Familie der Farne, den empirischen Beweis zu führen, „dass die Anlage der Organe am Embryo der Polypodiaceen nur durch seine Lage im Prothallium und Archegon bestimmt werde und von der Schwerkraft durchaus unabhängig sei." „Wenn nämlich das Prothallium mit seiner Längsaxe vertical steht, so liegen die beiden Theilungshälften des Embryo **über** einander, bei horizontaler Prothalliumlage aber **neben** einander." „Die mitgetheilten Beobachtungen" heisst es weiter im Schlusspassus der Abhandlung von Leitgeb", zeigen unwiderleglich, dass eine Beeinflussung der Organanlage am Embryo durch die Schwerkraft nicht stattfindet. Auch Sporenaussaaten, welche bei langsamer Rotation um eine horizontale Axe und in gleicher Weise bei rascher Rotation gezogen wurden und die es bis zur Embryobildung gebracht hatten, ergaben keine anderen Resultate; in allen Fällen war die Lage der Organe gegen einander und in Bezug auf das Prothallium (und Archegon) durchaus normal."

---

[1]) Leitgeb, Studien über Entwicklung der Farne. Sitzungsberichte der k. Akad. der Wissens. zu Wien. (Mathemat. naturw. Classe Bd. LXXX 1879.

V. Abschnitt.

Zusammenfassung der Resultate.

Wenn wir jetzt zum Schluss das zusammengestellte Beobachtungsmaterial vergleichend überblicken, dann müssen wir die Frage, welche für uns den Ausgangspunkt gebildet hat, welchen Einfluss übt die Schwerkraft auf die Theilung der Zellen aus, in einem entgegengesetzten Sinne beantworten, als es von Pflüger und Rauber geschehen ist. — An sich übt die Schwerkraft keinen directen Einfluss auf die Theilung der Zellen aus. Ebenso wenig beherrscht sie nach einem allgemeineren noch unbekannten Gesetz die Organisation. Die erste Theilungsebene kann bei den äqualen Eiern der Echiniden die verschiedensten Stellungen zu einer lothrechten Axe zeigen; daher nimmt die Entwicklung der Froscheier, wie Roux gezeigt hat, ungehindert auch dann ihren Fortgang, wenn die localisirte Wirkung der Schwere durch die langsame Umdrehung der Eier aufgehoben wird.

Bei gleichmässiger Beschaffenheit der Zellsubstanz sucht der Kern eine centrale Lage einzunehmen; setzt sich dagegen die Zelle aus einer dotterreicheren und einer protoplasmareicheren Partie zusammen, so ändert der Kern insofern seine Stellung als er mehr in das Bereich der protoplasmareicheren Partie rückt.

Die Richtung und Stellung der Theilungsebenen hängt in erster Linie von der Organisation der Zellen selbst ab; sie wird direct bestimmt durch die Axe des sich zur Theilung anschickenden Kerns. Die Lage der Kernaxe aber steht wieder in einem Abhängigkeitsverhältniss zur Form und Differenzirung des ihn umhüllenden protoplasmatischen Körpers.

So kann in einer Protoplasmakugel, wenn sie sich zur Theilung anschickt, die Axe des central gelagerten Kerns in der Richtung eines jeden Radius zu liegen kommen, in einem eiförmigen Protoplasmakörper dagegen nur in den längsten Durchmesser. In einer kreisrunden Protoplasmascheibe liegt die Kernaxe parallel zur Oberfläche derselben in einem beliebigen Durchmesser des Kreises, in einer ovalen Scheibe dagegen wieder nur im längsten Durchmesser.

Aus diesen in der Organisation der Zelle selbst gegebenen Factoren allein lässt sich die Richtung und gesetzmässige Auf-

einanderfolge der ersten Furchungsebenen bei sich theilenden Eiern bestimmen.

In vielen Fällen übt hierbei die Schwere einen indirecten Einfluss auf die Orientirung der Furchungsebenen im Raum aus, nämlich überall da, wo sich in einer Zelle Substanzen von verschiedener specifischer Schwere von einander gesondert und in einer schwereren und leichteren Schicht über einander angeordnet haben. Bei vielen Eiern wird eine derartige Anordnung bei der Reife, in Folge der Bildung der Richtungskörper und in Folge des Befruchtungsprocesses, herbeigeführt. Das Ei erhält dann eine bestimmte Axe mit animalem und vegetativem Pole, eine Axe, welche durch die Schwere lothrecht gerichtet werden muss. Dadurch aber muss auch die erste Furchungsebene nothwendiger Weise lothrecht stehen. Denn bei den geocentrisch differenzirten Eiern ist die leichtere protoplasmatische Substanz als Halbkugel oder Scheibe am animalen Pole der Eiaxe angehäuft und liegt horizontal ausgebreitet der Dotterhälfte auf. In der horizontalen Keimscheibe aber muss nach dem oben formulirten Gesetz auch die Kernaxe sich horizontal einstellen, die Furchungsebene daher eine verticale werden. In allen diesen Fällen wirkt die Schwerkraft nur insofern und gleichsam indirect ein, als bei Eiern mit animalem und vegetativem Pole die Eiaxe unter ihrem Einfluss lothrecht gerichtet wird.

Ferner findet bei polar differenzirten Eiern, wenn sie in eine von der Norm abweichende Zwangslage gebracht werden, unter dem Einfluss der Schwere, sowie unter dem Einfluss der bei der Befruchtung und Zelltheilung sich abspielenden inneren Vorgänge, eine theilweise Umlagerung der Substanzen von verschiedener Schwere und Dignität statt.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Ei von Cymbulia Peronii vor der Bildung des zweiten Richtungskörpers mit Spindel. Copie aus Fol. Etudes sur le développement des Mollusques. Paris 1875. Taf. VIII. Fig. 1.

Fig. 2. Ei von Cymbulia Peronii mit befruchtetem Eikern. Copie nach Fol. l. c. Taf. VIII. Fig. 3.

Fig. 3. Ei von Cymbulia Peronii vor der Zweitheilung. Copie nach Fol. l. c. Fig. 5.

Fig. 4. Ei eines Seeigels mit befruchtetem Kern.

Fig. 5. Ei eines Seeigels auf dem Stadium vor der Zweitheilung.

Fig. 6. Ei von Fabricia. Copie nach Haeckel. Die Gastrula und die Eifurchung der Thiere. Taf. XXIV. Fig. 92. Jenaische Zeitschrift Bd. IX. 1875.

Fig. 7. Ei von Fabricia. Zweigetheilt nach Haeckel. l. c. Taf. XXIV. Fig. 93.

Fig. 8—11. Eier von Ascaris nigrovenosa im Moment der Befruchtung. Copie nach Auerbach. Organologische Studien. 2tes Heft.

Fig. 12. Centrolecithales Ei. Schema.

Fig. 13. Centrolecithales Ei mit Keimblastem.

Fig. 14. Ei der Tellerschnecke in Zweitheilung. Nach Rabl Entwicklung der Tellerschnecke. Taf. XXXII. Fig. 2. Morphol. Jahrbuch. Bd. V.

Fig. 15. Ei der Tellerschnecke in Bildung des zweiten Richtungskörpers begriffen. Nach Rabl l. c. Taf. XXXII. Fig. 1.

Fig. 16. Seeigeleier in Furchung.

Fig. 17. Aequales Ei vor der Viertheilung.

Fig. 18. Ei mit äqualer Furchung in Zweitheilung.

Fig. 19. Meroblastisches Ei in Zweitheilung.

Fig. 20. Ei mit inäqualer Furchung in Zweitheilung.

Fig. 21. Ei mit inaequaler Furchung vor der Achttheilung.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.





O. Hertwig del.

Verlag v. Gustav Fischer, Jena.

Lith. Anst. v. F. C. Müller, Jena

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig,
o. Professor der Anatomie an der Universität
Jena.

und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität
Bonn.

Heft 2.

Welchen Einfluss

übt

die Schwerkraft

auf die

Theilung der Zellen?

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1884.

Fromi[illegible] ermann Pohle) in Jena.

Experimentelle Untersuchungen

über

die Bedingungen

der

Bastardbefruchtung.

Von

Dr. Oscar Hertwig, und **Dr. Richard Hertwig,**
o. ö. Professor der Anatomie an der Universität Jena
o. Professor der Zoologie an der Universität München.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1885.


WELLCOME
HISTORICAL MEDICAL LIBRARY


22900369402

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig,
o. Professor der Anatomie an der Universität
Jena.

und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität
München.



Heft 4.

Experimentelle Untersuchungen

über

die Bedingungen

der

Bastardbefruchtung.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1885.

Experimentelle Untersuchungen

über

die Bedingungen

der

Bastardbefruchtung.

Von

Dr. Oscar Hertwig, und **Dr. Richard Hertwig,**
o. ö. Professor der Anatomie an der Universität Jena
o. Professor der Zoologie an der Universität München.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1885.


WELLCOME
HISTORICAL
MEDICAL
LIBRARY

Um die Erscheinungen des Zellenlebens verstehen zu lernen, kann man zwei Methoden der Untersuchung anwenden, welche beide für die Lösung des Problems von gleicher Bedeutung sind, indem sie sich gegenseitig fördern und ergänzen. Die eine ist die Methode der vergleichenden Beobachtung, man könnte auch sagen, die Methode der Morphologie, da sie vorwiegend von morphologischer Seite geübt und ausgebildet wird, die andere dagegen ist die Methode der experimentellen Untersuchung, die physiologische Methode, insofern speciell die moderne Physiologie sich ihrer mit Vorliebe bedient.

Die erstgenannte Methode stellt sich zur Aufgabe, durch sorgfältige Beobachtungen die in der Natur gegebenen Thatsachen zu registriren und durch Vergleich derselben das Wichtige und Gesetzmäfsige in ihnen zu ermitteln. — Für das Studium der Zellen hat sie zu reichen Ergebnissen geführt. Wir sind durch sie über den Verlauf der Zelltheilung, über das Wesen der Befruchtung, über die zwischen Kern und Protoplasma bestehende Wechselwirkung in hohem Grade aufgeklärt worden. Nicht selten wurde sogar in den causalen Zusammenhang der Erscheinungen ein Einblick gewonnen. Denn in der Natur kehren dieselben Grunderscheinungen, je nach den wechselnden, äufseren Bedingungen, unter denen sie verlaufen und durch die sie modificiert werden, in den verschiedensten Bildern wieder. So führt uns die Natur selbst gleichsam Experimente vor das Auge, deren einzelne Factoren sich durch vergleichende Beobachtung recht gut ermitteln und in ihrer Wirkungsweise abschätzen lassen.

Die zweite oder die experimentelle Methode der Untersuchung

unterscheidet sich von der soeben genannten hauptsächlich dadurch, dass der Beobachter selbst die Factoren einführt, welche auf den Verlauf der Erscheinungen abändernd einwirken sollen. Ihr schreibt man im Allgemeinen — wenn auch nicht immer mit Recht — eine gröſsere Beweiskraft und Tragweite zu.

Auch mit dieser Methode hat man in der Neuzeit schöne Resultate erzielt, und noch reichere Ausbeute steht wohl in Aussicht. Denn wie uns scheint, kann die Untersuchung der Lebenserscheinungen der Zellen, welche bei der rein morphologischen Behandlungsweise sich in der Neuzeit allzu sehr in die nebensächlichen Details zu verlieren droht, von Seiten des Experiments neue Impulse gewinnen.

Auf dem Zellgebiete liegen bei näherer Prüfung besonders günstige Bedingungen für experimentelle Untersuchungen vor. Solche scheinen uns vor allen Dingen in den Entwicklungserscheinungen gegeben, welche sich bei der Reife, Befruchtung und Theilung der Eier abspielen, vorausgesetzt, daſs man sich dabei an geeignete Objecte hält, wie besonders an die Eier der meisten Echinodermen und vieler Würmer.

Befruchtung und Theilung der Eier sind Vorgänge, die sich durch eine grosse Gesetzmässigkeit auszeichnen, deren Verlauf zugleich aber nicht in dem Maasse befestigt ist, dass er nicht durch äussere Einwirkungen abgeändert werden könnte. Welcher Art die Kräfte sind, welche die Regelmässigkeit des Verlaufs bedingen, lässt sich ermitteln, wenn man sie durch entgegengesetzt wirkende Einflüsse zu compensiren sucht oder durch lähmende Agentien mehr oder minder vollständig ausschaltet.

So haben Pflüger, Born, Roux, Rauber den Einfluss der Schwerkraft auf die Theilung der Eier zu ermitteln gesucht, zum Theil, indem sie die Schwerkraft in abnormer Weise auf die Eier einwirken liessen, zum Theil, indem sie durch Anwendung von Centrifugalapparaten die Wirkungsweise derselben aufhoben.

Auch wir haben vor Jahresfrist eine Reihe experimenteller Untersuchungen begonnen, welche wir in der Folgezeit fortzusetzen gedenken. Wir haben zunächst das Gebiet der Befruchtungsvorgänge gewählt mit Rücksicht auf das ganz hervorragende Interesse, welches ihm zukommt, und mit Rücksicht darauf, dass an die in den letzten Jahren festgestellten morphologischen Thatsachen das physiologische Experiment recht gut anknüpfen kann.

Wie zuerst Oscar Hertwig nachgewiesen hat, beruht das Wesen der Befruchtung nicht allein in der vollständigen Verschmel-

zung geschlechtlich differenzirter Zellen, sondern vor allen Dingen auch in einer Verschmelzung der beiderseitigen Zellkerne. Die letztere scheint sogar der Hauptzweck der Befruchtung zu sein.

Zum normalen Verlauf gehört dann noch zweierlei: 1) dass beiderlei Sexualproducte von Thieren der nämlichen Art abstammen, 2) dass in ein Ei auch nur ein Spermatozoon eindringt.

Es können daher nach 2 Richtungen hin Abweichungen von der Norm stattfinden: Erstens, es können viele Spermatozoen in das Ei eindringen. Wir nennen diese Abnormität Polyspermie der Eizelle. Zweitens; es kann die Befruchtung durch ein Spermatozoon einer anderen Thierspecies vollzogen werden; das wäre dann Bastardbefruchtung.

In der Eizelle, vielleicht auch in der Samenzelle, müssen Kräfte thätig sein, welche diese Abnormitäten zu verhindern streben. Um nun aber zu erfahren, welcher Art diese Kräfte sind, muss man durch künstliche Einflüsse Bedingungen herstellen, unter denen Polyspermie und Bastardirung möglich sind, unter denen somit jene Kräfte aufgehoben werden.

In dem vorliegenden Heft wollen wir uns zunächst mit der Bastardirungsfrage beschäftigen. Dieselbe ist im Anschluss an Darwinistische Probleme viel erörtert, trotz alledem aber methodisch noch wenig bearbeitet worden. Streng genommen ist dieselbe in ihrer jetzigen Fassung überhaupt keine einheitliche, wissenschaftliche Frage, sondern ein ganzes Convolut von Fragen.

Kreuzung verschiedener Arten kann durch sehr verschiedenartige Ursachen, wie namentlich durch DARWIN schön auseinander gesetzt worden ist, vereitelt werden. Daher gelangt man zu einer klaren und einheitlichen Fragestellung erst dann, wenn man alle secundären, eine Kreuzbefruchtung verhindernden Momente ausser Acht lässt und sich auf die Bastardirungsfähigkeit der Sexualproducte beschränkt, d. h. wenn man nur die Fälle berücksichtigt, in denen das Zusammentreffen der Eier und des männlichen Samens auf natürlichem oder künstlichem Wege herbeigeführt werden kann und die Kreuzungsfähigkeit allein von den Eigenschaften der Geschlechtszellen abhängt.

Diese Fälle, auf welche sich unsere gegenwärtigen Untersuchungen allein beziehen, sind auch ohne Zweifel die interessanteren, da sich uns bei ihrem Studium wichtige Eigenschaften der Zelle zu erkennen geben.

Auch sind sie schon Gegenstand experimenteller Untersuchungen geworden, von denen wir hier nur kurz die Arbeiten von

Pflüger und Born namhaft machen und dabei hervorheben wollen, dass wir später noch Gelegenheit finden werden, auf den Inhalt derselben genauer einzugehen.

Unsere eigenen Untersuchungen wurden durch eine zufällig gemachte Beobachtung in eine bestimmte Bahn gelenkt. Als wir Kreuzungen zwischen verschiedenen Arten von Seeigeln vornahmen, war es uns an einem stürmischen Tage nicht möglich, frisches Material zur Untersuchung zu erhalten. Wir benutzten daher Eier von Strongylocentrotus lividus, die vom vorhergegangenen Tage unbefruchtet in einem Schälchen mit Meerwasser aufgehoben worden waren, und kreuzten sie mit Samen von Sphaerechinus granularis. Zu unserer grossen Überraschung beobachteten wir jetzt, dass nicht wie in den früher vorgenommenen Versuchen nur einzelne Eier, sondern der weitaus grösste Theil befruchtet wurde und sich entwickelte. Wir vermutheten sogleich, es möchte dies abweichende Resultat bedingt sein durch eine herabgesetzte Lebensenergie der Eier, welche eintreten muss, wenn dieselben längere Zeit unbefruchtet im Meerwasser verweilen. Wir entschlossen uns daher, die durch jene zufällig gemachte Beobachtung angeregte Frage sogleich durch eine Reihe von Experimenten zu prüfen und konnten so die interessante Thatsache feststellen, dass durch das Liegen im Wasser Veränderungen der Eizelle vor sich gehen, welche die Bastardirung begünstigen.

Es ist das selbstverständlich nur ein besonderer Fall aus einer ganzen Reihe von Erscheinungen, auf welche wir zum Theil schon gelegentlich Rücksicht genommen haben, zum Theil ausführlicher noch zurückkommen werden. Denn wir gedenken später die Fragestellung zu erweitern, in wie weit äussere Einflüsse die Befruchtungsfähigkeit der Eizelle alteriren. Auf diesem Wege wird es möglich sein, so hoffen wir, in die Physiologie der Befruchtung tiefere Einblicke zu gewinnen.

Unsere Untersuchungen wurden während der Osterferien 1884 ausgeführt und zwar der Hauptsache nach in Sorrent, nachdem wir zuvor schon einige orientirende Beobachtungen in La Specia gesammelt hatten. Leider konnten wir ihnen nur 14 Tage widmen, da die Ferien zu Ende gingen. Noch mehr hatten wir zu beklagen, dass wir unter ungünstigen äusseren Verhältnissen zu leiden hatten. Da wir anfangs beabsichtigt hatten, in der zoologischen Station zu Neapel zu arbeiten, hatten wir von Spezia aus einen Theil unserer Ausrüstung zurückgesandt. In Neapel ange-

langt hielten wir uns aber daselbst nur drei Tage auf und wählten das nah gelegene Sorrent, um unsere Studien fortzusetzen. Hier fanden wir nur unvollkommene Gelegenheit, das Fehlende in der Ausrüstung zu ergänzen. Nun kann man ja in den meisten Fällen am Meer mit wenig Arbeitsgeräth auskommen. Untersuchungen über Bastardirung machen dagegen einen umfangreicheren Apparat mindestens wünschenswerth, da man gezwungen ist, viele Thiere am Leben zu erhalten und viele Entwicklungsreihen anzusetzen und während längerer Zeit zu züchten.

Aus naheliegenden und auch schon früher erörterten Gründen bedienten wir uns der Echinodermeneier und zwar da die Seesterne sämmtlich keine reifen Sexualproducte hatten, der Eier der Seeigel. Von denselben standen uns 4 Arten zur Disposition. Strongylocentrotus (Toxopneustes) lividus und Echinus mikrotuberculatus, Sphaerechinus granulosus und Arbacia pustulosa (Echinocidaris aequituberculata). Die erste und die zuletzt genannten Arten sind in Sorrent sehr häufig und werden von den Fischern für Weibchen und Männchen derselben Art gehalten; etwas seltener sind die grossen Sphaerechinus granularis, doch immerhin noch leicht in ausgiebiger Menge zu erhalten. Der kleine Echinus mikrotuberculatus wurde uns dagegen nur einmal in 20 Exemplaren gebracht, deren Geschlechtsorgane noch nicht auf der Höhe der Reife angelangt waren, was die Verwerthung des Materials behinderte. In Spezia dagegen hatten wir uns die Thiere selbst an den Pfählen der Badeanstalt in reichlicher Menge verschaffen können und fanden sie daselbst in der Reife weiter vorgeschritten.

Wenn es irgendwie möglich war, benutzten wir zu unseren Experimenten frisch eingefangene Thiere. Denn so sehr auch die Seeigel lebenszäh sind, so leiden die Sexualproducte doch in der Gefangenschaft, da die Thiere durch die reichlichen Faecalmassen, welche sie entleeren, das Wasser verpesten. Hält man aber die Thiere ausser Wasser in feuchtem Tang verpackt, so können die Excremente nicht entleert werden, und das in der Körperkapsel befindliche Wasser wird rasch übelriechend.

Schliesslich hätten wir noch über die Cautelen zu berichten, deren wir uns bedient haben, um zu verhüten, dass bei den Kreuzbefruchtungen nicht Verunreinigungen mit dem Sperma derselben Art die Resultate trübten. In erster Linie ist hier die grösste Reinlichkeit bei der Handhabung der Instrumente unbedingtes Erforderniss. Daher wurde jedes Instrument vor und nach seinem Gebrauch jedesmal in Süsswasser sorgfältig abgewaschen. Wir liessen

es dabei durch 2 Gefässe mit Süsswasser gehen; im ersten wurde das Meerwasser abgespült, im zweiten, dessen Inhalt bei dem befolgten Verfahren mit Meerwasser so gut wie gar nicht verunreinigt werden konnte, wurden die Instrumente darin einige Zeit belassen. Der Umstand, dass Süsswasser auf die Zellen der meerbewohnenden Thiere einen äusserst verderblichen Einfluss ausübt, und, wie wir uns durch besondere Versuche überzeugt haben, auch die Samenfäden rasch abtödtet, erleichtert alle Versuche über Kreuzung bei Meerthieren wesentlich im Vergleich zu den Versuchen mit Land- und Süsswasserbewohnern. Desgleichen wurden selbstverständlicher Weise auch die Gläser, Porcellanschalen und Uhrgläschen vor der Benutzung behandelt und die Hände mit Seife und Süsswasser gewaschen, bei jeder Gelegenheit, wo eine Uebertragung von Sperma durch sie möglich schien.

Zweitens suchten wir so gut wie ganz die Verwendung von Metallinstrumenten zu vermeiden, da diese rasch sich oxydiren und schwieriger zu reinigen sind; dagegen gebrauchten wir fast ausschliesslich zugespitzte Glasröhren, um Sperma und Eier zu mischen.

Wenn wir von den zur Uebertragung dienenden Instrumenten absehen, so waren noch zwei weitere Fehlerquellen zu vermeiden. Einmal konnte das Meerwasser, welches zum Ansetzen der Kultur diente, von Anfang an Spermatozoen enthalten. Wir schöpften daher meist selbst in einem gut gereinigten Glas Seewasser von der Oberfläche des Meeres jeden Tag mehrmals; aus diesem Glas durfte Wasser nur durch Ausgiessen oder mit Hilfe einer Röhre, welche zu keinem andern Zwecke diente, entnommen werden. Dass übrigens im Wasser keine Spermatozoen enthalten waren, ging auch noch daraus hervor, dass die Eier in ihm sich nicht entwickelten, so lange nicht zum Zweck des Experiments Sperma hinzugefügt worden war.

Eine andere Fehlerquelle könnte dadurch hervorgerufen werden, dass die Oberfläche eines Thieres mit Spermatozoen einer anderen Art verunreinigt ist. Deshalb ist es gut, jedes Thier vor dem Gebrauch wiederholt gründlich abzuspülen oder, was noch besser ist, das Thier zu öffnen und das Sperma, resp. die Eier, den Geschlechtsorganen zu entnehmen.

Unter Anwendung der besprochenen Cautelen verfuhren wir nun folgendermaassen. Wir übertrugen mit Hilfe eines Glasrohrs von ein und demselben Weibchen eine grosse Quantität Eier, die entweder spontan oder durch Druck auf den Eierstock ent-

leert worden waren, in ein grösseres Gefäss mit reinem Meerwasser, welches bedeckt und dadurch vor Verunreinigung und Verdunstung geschützt wurde. Nach einiger Zeit versicherten wir uns durch Beobachtung unter dem Microscop, dass sämmtliche Eier unbefruchtet waren, dann entnahmen wir in Intervallen von 2—3 Stunden Eier aus dem Gefäss und befruchteten dieselben mit Sperma von einem Männchen anderer Art. Die Spermaflüssigkeit wurde jedesmal frisch bereitet, indem ein Tropfen Sperma aus dem Hoden oder dem Vas deferens entnommen und mit reinem Seewasser stark verdünnt wurde. Fast stets wurde darauf Bedacht genommen, dafs männliche Thiere derselben Art nicht auf dem Arbeitstisch oder überhaupt nicht im gleichen Arbeitszimmer waren. Controlbefruchtungen der Eier mit Sperma derselben Art wurden stets in grosser Entfernung vom Arbeitstisch vorgenommen, und dann wurde das zum Befruchten verwandte Glasröhrchen mit besonderer Aufmerksamkeit gereinigt.

Bei den Echiniden hat man übrigens noch ein Mittel an der Hand, um auch später festzustellen, ob etwa erzielte Befruchtungen Kreuzbefruchtungen sind oder nicht. Es fällt sehr leicht, aus den Eiern die Pluteusformen zu ziehen; da diese nun für die einzelnen Arten charakteristisch sind, so wäre es wohl denkbar, dass die durch Bastardirung gezüchteten Pluteusformen gemischte Charaktere besässen. Wir haben nach dieser Richtung leider keine Beobachtungen sammeln können, da wir in der Zeit zu beschränkt waren.

Für das Verständniss des Folgenden schicken wir noch einige Worte über bemerkenswerthe und bei den Experimenten zu beachtende Begleiterscheinungen der Befruchtung voraus.

Wenn man mit frischen kräftigen Eiern und frischem kräftigem Sperma operirt, so ist das erste Zeichen eingetretener Befruchtung, dafs sich rings vom Dotter die Dotterhaut weit abhebt. Wir lassen es dabei dahingestellt, ob dieselbe bei der Befruchtung neu gebildet wird (Fol), oder als dünnes Häutchen schon vorhanden war und nur eine Verdickung erfährt (Eberth) oder endlich von Anfang an vorhanden war und nur dadurch deutlich wird, dass sich das Protoplasma des Eies von ihr zurückgezogen hat. Wir halten uns an die Thatsache, dass beim befruchteten Ei die Dotterhaut von der Oberfläche des Dotters durch einen weiten Zwischenraum getrennt ist. Unter normalen Verhältnissen kann man dann sicher sein, dass stets nur 1 Spermatozoon eingedrungen ist.

Bei längerem Liegen der Eier wird die Abhebung der Dotter-

membran, wie schon bekannt ist, wesentlich verlangsamt; man findet sie stellenweise blasenartig emporgewölbt, während sie an anderen Stellen noch anliegt, bis endlich der normale Zustand langsam erreicht wird. Dies führt uns zu Fällen, wo man auf den ersten Blick vermuthen möchte, die Loslösung der Dotterhaut sei ganz unterblieben, wo aber eine nähere Prüfung uns eines Besseren belehrt. Man findet dann die Dotterhaut ringsum abgelöst, aber durch einen so minimalen Spalt von der Eioberfläche getrennt, dass man ihn leicht ganz übersieht. Die Eier unterscheiden sich von unbefruchteten nur durch ihre eigenthümlich scharfe Contourirung. Auch sie enthalten in ihrem Inneren nur einen einzigen Spermakern.

Wenn die Eier 1 bis 2 Tage im Meerwasser gelegen haben, so sind sie in der Regel noch nicht abgestorben, sondern sehen noch wie frisches Material aus. Bei Zusatz von lebenskräftigem Samen indessen hebt sich keine Membran vom Dotter ab; im Inneren desselben bemerkt man nach Verlauf von 10 bis 20 Minuten zwei, drei und mehr Strahlungen, die vom Eindringen entsprechend vieler Spermatozoen herrühren. In Folge der Polyspermie treten unregelmässige Theilungen und Zerklüftungen der Eizelle und schliesslich Stillstand der anomalen Entwicklung und Zerfall ein.

Nach unseren Erfahrungen lassen sich bestimmte Angaben über die Zeitintervalle, in welchen nach vorgenommener Entleerung der Eier die eben skizzirten Veränderungen einander folgen, nicht machen. Es hängt dies von verschiedenen Ursachen ab. So sind bei einzelnen Thieren selbst die Eier, welche man eben dem Ovar entnommen hat, von Anfang an nicht vollkommen gleichartig, wie ja auch schon in älteren Arbeiten hervorgehoben worden ist, dass die Eier von Weibchen, welche mehrere Tage lang in Gefangenschaft gehalten worden waren, gleich Polyspermie zeigen. Ferner stellen selbst die frisch entleerten Eier ein und desselben Thieres durchaus kein gleichartiges Material dar. Manche besitzen eine grössere, andere eine geringere Lebensenergie, wie wir später noch des Näheren nachweisen werden.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen wenden wir uns zur:

Beschreibung der einzelnen Experimente.

Zur besseren Uebersichtlichkeit besprechen wir die angestellten Experimente in zwei Kapiteln. Das eine Kapitel, auf welches

wir an erster Stelle eingehen werden, enthält die Kreuzungen, welche zwischen frischem Eimaterial und frischem Samen von 4 verschiedenen Seeigelarten, Strongylocentrotus lividus, Echinus mikrotuberculatus, Arbacia pustulosa, Sphaerechinus granularis vorgenommen wurden. In einem zweiten Kapitel stellen wir die Resultate zusammen, welche durch Bastardbefruchtung von Eiern, die durch äussere Einflüsse in ihrer Constitution Veränderungen erlitten hatten, gewonnen worden sind.

I. Kapitel.

Kreuzungsversuche mit frischem, unverändertem Material.

1) Kreuzungen zwischen Strongylocentrotus lividus und Echinus mikrotuberculatus:

a) Wenn man Eier von Echinus mikrotuberculatus mit Sperma von Strongylocentrotus lividus vermischt, so sieht man, dass nach wenigen Minuten die Eihaut überall wie bei normaler Befruchtung abgehoben ist. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden sind alle Eier in regelmässiger Weise zweigetheilt. Am folgenden Tage haben sich flimmernde Blastulae entwickelt, am dritten sind Gastrulae entstanden, am vierten Tage hat sich das Kalkskelet angelegt. Zu dem gleichen Ergebniss führte ein zweiter Versuch.

b) Kreuzungen in entgegengesetzter Richtung ergaben andere Resultate. Als in einem Uhrschälchen zu Eiern von Strongylocentrotus lividus Samen von Echinus mikrotuberculatus zugefügt wurde, hob sich nur in sehr seltenen Fällen die Eihaut von dem Dotter ab. Fast alle Eier blieben ganz unverändert. Nach zwei Stunden war nur hie und da ein Ei zweigetheilt. Bei den ausserordentlich wenigen sich theilenden Eiern war die Eihaut entweder nur ein wenig abgehoben oder sie lag dem Dotter noch ziemlich dicht auf. Am anderen Tage waren im Uhrschälchen einige wenige flimmernde Blastulae zu bemerken, während die Hauptmasse der Eier noch ganz unverändert war.

Ein zweiter und dritter Controlversuch fiel genau in der gleichen Weise aus.

Dass das Ausbleiben der Befruchtung nicht durch eine Schädigung des Eimaterials hervorgerufen war, liess sich leicht feststellen, indem dieselben Eier, welche mit dem Samen von Echinus mikrotuberculatus vergeblich gekreuzt worden waren, noch

nach Ablauf einiger Stunden mit dem Samen der eigenen Species befruchtet wurden. Jetzt hob sich alsbald die Eihaut überall ab, die Entwicklung begann und am anderen Tage waren fast alle Eier zu Blastulae ausgebildet.

Die eben beschriebenen Versuche sind von uns in Spezia angestellt worden, wo wir uns mit leichter Mühe zu wiederholten Malen den kleinen Echinus mikrotuberculatus, der vollständig reife Geschlechtsprodukte enthielt, verschaffen konnten.

2) Kreuzungen zwischen Sphaerechinus granularis und Strongylocentrotus lividus.

Beide Arten stehen in näherem verwandtschaftlichen Verhältnis zu einander, indem sie zu ein und derselben Abtheilung der Polypori gehören.

a) Wenn Eier von Sphaerechinus granularis, die mit eigenem Samen vollkommen befruchtungsfähig waren, mit Samen von Strongylocentrotus lividus gekreuzt wurden, so trat immer nur in wenigen Fällen Abhebung der Dotterhaut und nach $1\frac{1}{2}$ Stunden Zweitheilung ein. Die befruchteten Eier aber entwickelten sich zu vollkommen normalen Morulae.

b) Ein ähnliches Resultat erhält man bei Kreuzung der Eier von Strongylocentrotus lividus mit Samen von Sphaerechinus granularis.

Wenn das Eimaterial ganz frisch ist, erfolgt nur in vereinzelten Fällen Befruchtung. Auch Eier, deren Gallerthülle von Spermatozoen der anderen Art dicht besetzt ist, entwickeln sich nicht. Dagegen werden sie noch Stunden nach der Kreuzung durch Samen der eigenen Art sofort befruchtet. Die Concentration der Samenflüssigkeit scheint auf das Gelingen der Bastardirung ohne Einfluss zu sein. In einem Versuch wurde ein Theil Eier mit wenig Sperma, ein anderer Theil mit der vierfachen Menge vermischt. In beiden Fällen war die Anzahl der sich entwickelnden Eier schätzungsweise die gleiche.

3) Kreuzungen zwischen Arbacia pustulosa und Strongylocentrotus lividus.

Die Eier von Arbacia pustulosa, welche ziemlich undurchsichtig und violett gefärbt sind, wurden mit Samen von Strongylocentrotus lividus vermischt. Ob hier eine Befruchtung eingetreten ist, kann nicht leicht sofort festgestellt werden, weil sich auch bei Zusatz des Samens der gleichen Art die Eihaut nur unmerklich vom Dotter abhebt und das eingedrungene Spermatozoon in

der trüben Dottersubstanz nicht zu erkennen ist. Man muss daher, um das Resultat zu prüfen, das Stadium der Zweitheilung abwarten. Dann kann man feststellen, dass nur ein kleiner Bruchtheil der Eier befruchtet worden ist und sich nach etwa zwei Stunden getheilt hat.

Am anderen Tag schwimmen im Uhrschälchen vereinzelte Blastulae herum, während die Hauptmasse der Eier unverändert geblieben ist. Noch 24 Stunden später haben sich aus den Blastulae Gastrulae entwickelt.

Das Kreuzungsresultat ist hier etwa dasselbe, wie bei der Befruchtung der Eier von Strongylocentrotus lividus mit Samen von Echinus mikrotuberculatus.

b) Bei Kreuzung in entgegengesetzter Richtung trat in mehreren Versuchen gar kein Erfolg ein. Die Eier des Strongylocentrotus lividus blieben bei Zusatz des Samens von Arbacia pustulosa ausnahmslos unbefruchtet, entwickelten sich aber sofort, wenn nach Ablauf mehrerer Stunden Samen der gleichen Art hinzugefügt wurde.

4) Kreuzungen zwischen Arbacia pustulosa und Sphaerechinus granularis.

Beide Arten gehören zwei verschiedenen Abtheilungen der Seeigel an. Das Resultat war etwa dasselbe, wie bei der Kreuzung von Arbacia pustulosa mit Strongylocentrotus lividus.

a) Wurden die Eier von Arbacia mit Samen von Sphaerechinus vermischt, so erfolgten nach zwei und einer halben Stunde nur sehr vereinzelte Zweitheilungen.

b) In entgegengesetzter Richtung blieb die Kreuzung in einem Falle ohne jeden Erfolg. Bei zwei anderen Versuchen theilten sich einige Eier.

II. Kapitel.

Kreuzungsversuche mit Eiern, die durch äussere Einflüsse Veränderungen ihrer Constitution erlitten haben.

Es lassen sich sehr zahlreiche und interessante Experimente anstellen, wenn man Eier vor ihrer Befruchtung verschiedenartigen äusseren Einflüssen unterwirft. Der Experimentator hat hier noch ein weites, bisher ganz unangebautes Forschungsgebiet vor sich. Zur Inangriffnahme desselben haben wir, da uns die Arbeitszeit am Meere sehr karg zugemessen war, gleichsam nur den er-

sten Schritt thun können; so nahmen wir nach mehreren Richtungen vorläufige Probeversuche vor; in mehr erschöpfender Weise untersuchten wir dagegen nur die Bastardirung von Eiern, deren Lebensenergie durch verschieden langes Verweilen im Meerwasser in mehr oder minder bedeutendem Maasse herabgesetzt worden war. Nur über letztere Versuchsreihe wollen wir an dieser Stelle berichten, während wir über andere hierher gehörige Experimente weitere Mittheilungen uns für die nächste Zeit vorbehalten.

Um zu prüfen, ob Eier, je nachdem sie kürzere oder längere Zeit im Meerwasser verweilt haben, in verschiedener Weise gegen Samen einer anderen Art reagiren, kann man zwei Methoden der Untersuchung wählen. Entweder man nimmt von einer grösseren, im Meerwasser aufgehobenen Portion Eier kleine Proben in Intervallen von mehreren Stunden heraus und befruchtet dieselben in Uhrschälchen und vergleicht die in den einzelnen Fällen erzielten Resultate mit einander, indem man jedesmal die Zahl der befruchteten und der unbefruchtet gebliebenen Eier abschätzt; oder man fügt zu ein und derselben Portion Eier frischen Samen zu wiederholten Malen und zwar in denselben Zeitintervallen wie bei der ersten Methode hinzu. Man hat dann festzustellen, ob beim zweiten, dritten oder vierten Spermazusatz noch weitere Eier bastardirt werden können. Zur grösseren Sicherheit der allgemeinen Resultate haben wir beide Wege eingeschlagen und gleichzeitig zwei sich kontrolirende Versuchsreihen vorgenommen, indem der eine von uns die Eier von Strongylocentrotus lividus mit dem Samen von Sphaerechinus granularis, der andere die Eier von Sphaerechinus granularis mit Samen von Strongylocentrotus lividus bastardirte.

Nebenher wurden auch noch einige Kreuzungen der vorbenannten Arten mit Echinus mikrotuberculatus, allerdings nur mehr versuchsweise, veranstaltet.

Um darzuthun, dass der ungleiche Erfolg der Bastardirung nicht von Verschiedenheiten der angewandten Samenflüssigkeiten abhängt, haben wir schliesslich noch eine Versuchsreihe in der Weise durchgeführt, dass mehrere Portionen Eier von Strongylocentrotus lividus, die von verschiedenen Weibchen abstammten und ungleiche Zeiträume im Wasser gelegen hatten, mit Samen von Sphaerechinus granularis, der in einem Uhrschälchen mit Wasser verdünnt worden war, gleichzeitig und in gleichem quantitativem Verhältniss gekreuzt wurden.

A. Modificirte Bastardbefruchtung der Eier von Strongylocentrotus lividus durch Samen von Sphaerechinus granularis.

Hier wurden die Experimente in der oben namhaft gemachten dreifach verschiedenen Weise ausgeführt. Dieselben lassen sich daher in drei Gruppen sondern, welche wir für sich gesondert besprechen wollen.

Erste Gruppe der Experimente.

Ein und dieselbe Portion Eier von Strongylocentrotus lividus wurde mehrmals und zwar zu verschiedenen Zeiten mit Samen von Sphaerechinus granularis befruchtet. (Methode der successiven Nachbefruchtung.)

Erster Versuch.

Am 17. April 4 Uhr Nachmittags entleerte ein frisch eingefangenes Weibchen von Strongylocentrotus lividus freiwillig eine grosse Quantität Eier. In einem kleinen Glasgefäss wurde sogleich eine Partie derselben gesammelt und mit frischem Samen von Sphaerechinus granularis versetzt, wodurch die Befruchtung etwa bei dem zehnten Theil der Eier hervorgerufen wurde. Am folgenden Tage hatten sich die letzteren zu normalen im Wasser herumflimmernden Blastulae entwickelt.

In dem unbefruchtet gebliebenen Rest, der nach Erneuerung des Wassers in einem zugedeckten Glasschälchen sorgfältig aufbewahrt worden war, wurde am 18. April 9 Uhr, also 17 Stunden nach dem ersten Spermazusatz, Samen von Sphaerechinus granularis zum zweiten Male hinzugefügt. Jetzt blieb die Befruchtung nur bei wenigen Eiern aus; doch wurde dabei die Dotterhaut nicht mehr abgehoben. Am besten liess sich der Erfolg des Experiments nach einigen Stunden beurtheilen, indem man dann etwa zwei Drittel der Eier in normaler Weise in zwei oder vier Stücke zerfallen antraf. Von denjenigen, welche sich nicht getheilt hatten, zeigten einige im Inneren unregelmässige Kernfiguren, andere waren unbefruchtet geblieben, trotzdem ihrer Oberfläche zahlreiche Samenfäden anhafteten. Letztere liessen sich indessen — allerdings ohne Abhebung einer Dotterhaut — noch befruchten, als zu einer auf einem Objectträger gebrachten Probe Samen der eigenen Art hinzugefügt und unter dem Mikroskop der Erfolg beobachtet wurde.

Zweiter Versuch.

Am Freitag den 18. April 9 Uhr wurden einem frisch eingefangenen Weibchen Eier entnommen und in Meerwasser aufgehoben. Als sogleich eine kleine, in ein besonderes Uhrschälchen übertragene Probe mit Samen der eigenen Art vermischt wurde, trat überall Abhebung der Dotterhaut nach wenigen Minuten ein, kein Ei blieb unbefruchtet. In einer anderen gleichzeitig vorgenommenen Probe jedoch, zu welcher Samen von Sphaerechinus granularis hinzugefügt wurde, hob sich bei keinem Ei die Dotterhaut ab und es erfolgte keine Theilung.

Am folgenden Tage (19. April) 11 Uhr zeigte das in Meerwasser conservirte Eimaterial bereits eine grössere Neigung zur Kreuzung. Denn als ein grösserer Theil desselben mit frischem und lebenskräftigem Sperma von Sphaerechinus granularis befruchtet wurde, sah man nach Ablauf einiger Stunden, dass jetzt nahezu die Hälfte sich entwickelt hatte. Darunter waren auch einige Abnormitäten wahrzunehmen.

Nach 5 Stunden wurde in dasselbe Uhrschälchen zum zweiten Male Samen von Sphaerechinus granularis hinzugefügt. Es hatte zur Folge, dass sich jetzt noch viele Eier entwickelten, die sich beim ersten Zusatz nicht verändert hatten. Nur ein geringer Rest blieb diesmal ungetheilt.

Dritter Versuch.

Ein und dieselbe Portion Eier von Strongylocentrotus lividus wurde zu verschiedenen Zeiten vier Mal nach einander mit Samen von Spharechinus granularis versetzt. Dieselbe stammte von dem Weibchen ab, welches am 17. April 4 Uhr freiwillig Eier entleert hatte, von denen ein Theil schon zu dem oben beschriebenen Versuch Nr. 1 benutzt worden war. Die erste Kreuzung der Eier wurde gleich nach ihrer Entleerung am 17. April vorgenommen und hatte zur Folge, dass etwa der zehnte Theil befruchtet wurde und am folgenden Tage sich zu flimmernden Blastulae entwickelt hatte.

Unter zeitweiser Erneuerung des Wassers wurde das Versuchsmaterial sorgfältig in einem zugedeckten Uhrschälchen bis zum 19. April aufgehoben und um 11 Uhr zum zweiten Male mit frischem Samen von Sphaerechinus vermischt. Von den unbefruchtet gebliebenen 9 Zehntel theilte sich jetzt etwa die Hälfte.

An demselben Tage um 3 Uhr wurde abermals frischer Samen von Sphaerechinus in das Uhrschälchen eingetropft und dadurch wieder eine Anzahl Eier nach Ablauf von zwei Stunden zur Theilung veranlasst.

Nachdem zur Entfernung der abgestorbenen Spermatozoen das Meerwasser im Uhrschälchen erneuert worden war, wurde schliesslich am Abend des 19. April ein letzter Zusatz von lebenskräftigem Samen gemacht. In Folge dessen trat wieder bei einer kleinen Anzahl die Kreuzbefruchtung ein. Denn zwei Stunden nach dem Zusatz des Samens waren zwischen flimmernden Blastulae, kleinzelligen Morulae, vielzelligen Theilungsstadien wieder einige zwei- und viergetheilte Eier wahrzunehmen. Nur ein ganz kleiner Rest war bei der viermal wiederholten Kreuzung schliesslich noch unbefruchtet geblieben.

Vierter Versuch.

Am 19. April wurden von einem frisch eingefangenen Weibchen mit strotzend gefüllteu Ovarien Eier entleert, die sich, wie ein Probeversuch zeigte, mit dem Samen der eigenen Art sofort in ganz normaler Weise befruchten liessen. Als zu einem anderen Theil der Eier zur selben Zeit (11 Uhr) Samen von Sphaerechinus hinzugefügt wurde, erfolgte nur in ausserordentlich wenigen Fällen Kreuzbefruchtung.

Nach Ablauf von vier Stunden wurde dieselbe Partie zum zweiten Male mit frischem Samen von Sphaerechinus vermischt, diesmal aber ohne jeden Erfolg, da in den wenigen Stunden, die seit Vornahme der ersten Befruchtung verflossen waren, der schädigende Einfluss des Meerwassers sich noch nicht hatte geltend machen können.

Am folgenden Tage 9 Uhr (etwa 24 Stunden nach der Entleerung aus den Ovarien) wurde ein dritter Zusatz von Samen des Sphaerechinus gemacht, was zur Folge hatte, dass jetzt noch etwa die Hälfte der Eier, welche vorher zweimal auf das fremde Sperma nicht reagirt hatten, befruchtet wurden. Als nach vier Stunden die Eier untersucht wurden, waren viele in vier oder acht Theilstücke zerfallen, einige waren erst zweigetheilt, einige wenige zeigten im Inneren Strahlenbildung. Aus der Ungleichmässigkeit der Entwickelung kann man schliessen, dass einige Zeit nach dem dritten Zusatz des Samens noch Nachbefruchtungen durch überlebende Samenfäden stattgefunden haben müssen.

Zweite Gruppe der Experimente.

Von einer grösseren Menge gleichzeitig entleerter und in Meerwasser conservirter Eier eines Weibchens werden in verschiedenen Zeitintervallen Proben entnommen und mit frischem Samen der anderen Art gekreuzt (Methode der ungleichzeitigen Kreuzbefruchtung).

Erste Versuchsreihe.

Am 14. April 6 Uhr Abends wurden Eier eines frisch eingefangenen Weibchens von Strongylocentrotus lividus in eine grosse Schale mit Meerwasser gebracht. Eine Kreuzung unmittelbar nach ihrer Entleerung konnte wegen der vorgerückten Tageszeit nicht versucht werden, doch kann nach den sonst von uns gesammelten zahlreichen Erfahrungen wohl der Satz als festgestellt gelten, dass bei einem lebenskräftigen und frischen Eimaterial von Strongylocentrotus lividus immer nur sehr vereinzelte Eier durch Samen von Sphaerechinus befruchtet werden.

Das am 14. April gesammelte Material diente nun zu folgenden 3 Versuchen:

Erster Versuch. 16 Stunden nach Entleerung der Eier.

Aus dem grösseren Gefäss wurden am 15. April 10 Uhr zwei Partieen von Eiern entnommen, in zwei Uhrschälchen gebracht, und die eine mit Samen der eigenen Art, die andere mit Samen von Sphaerechinus granularis vermischt.

Im ersten Falle hob sich die Dotterhaut nur bei dem dritten Theil der Eier sofort, wie es normaler Weise sein muss, vom Dotter ab. Bei den übrigen drangen gleichfalls Spermatozoen ein, aber ohne dass es zur Bildung einer abstehenden Eihaut gekommen wäre. Zuweilen waren statt eines einzigen, mehrere Spermatozoen in das Ei gelangt, kenntlich an der sie umgebenden Dotterstrahlung. Nach Ablauf von 1½ Stunde erfolgte regelmässige Zweitheilung bei dem weitaus grössten Theile der Eier.

In dem anderen Uhrschälchen, in welches der fremde Samen gebracht worden war, hob sich auch die Eihaut sofort bei einem Viertel der Eier ab; etwa andere zwei Viertel wurden ebenfalls noch befruchtet, aber ohne Abhebung der Dotterhaut. Unter ihnen wurden später mehrere Abnormitäten bemerkbar, Eier, die viele Spermastrahlungen zeigten und sich in unregelmässiger Weise furchten. Von diesen abgesehen trat bei den kreuzbefruchteten

Eiern nach 1½ Stunde Zweitheilung ein. Etwa nur ein Viertheil der Eier blieb bei der Kreuzung unbefruchtet, woraus aber nicht geschlossen werden darf, dass sie etwa abgestorben gewesen seien. Denn als wir auf dem Stadium, wo die durch Kreuzung befruchteten Eier schon in acht oder sechzehn Theilstücke zerfallen waren, Samen der eigenen Art noch in das Uhrschälchen hineintropften, so wurde auch der Rest, welcher sich nicht entwickelt hatte, befruchtet, und zwar hob sich die Eihaut bei einem Theil der Eier ab, bei einem anderen nicht.

Zweiter Versuch. 23 Stunden nach Entleerung der Eier.

Am 15. April 5 Uhr Nachmittags wurden wieder zwei Portionen des am 14. gesammelten Eimaterials, die eine mit Samen der gleichen Species, die andere mit Samen von Sphaerechinus granularis vermischt. In beiden Fällen wurden fast alle Eier befruchtet, aber mit wenigen Ausnahmen ohne Abhebung der Dotterhaut. Nach 3 Stunden waren die Eier theils in zwei, theils in vier, oder acht, oder sechzehn Stücke getheilt; nur eine kleine Anzahl hatte sich gar nicht entwickelt.

Ein ähnliches Resultat erhielten wir, als wir anstatt mit dem Samen von Sphaerechinus granularis mit dem Samen von Echinus mikrotuberculatus kreuzten.

Am 16. April waren in allen Uhrschälchen zahlreiche flimmernde Blastulae vorhanden, welche noch mehrere Tage weiter gezüchtet werden konnten.

Dritter Versuch. 2 Tage nach Entleerung der Eier.

Die am 14. April in Meerwasser aufgehobenen Eier sind sogar noch am 16. April entwickelungs- und kreuzungsfähig, doch ohne Abhebung der Dotterhaut. Auch treten jetzt zahlreiche Abnormitäten auf.

Erst nach mehr als zwei Tagen war schliesslich das Eimaterial abgestorben.

Zweite Versuchsreihe.

Am 15. April Abends 10 Uhr wurden die Eier eines frisch eingefangenen Weibchens von Strongylocentrotus lividus in eine Schale mit Meerwasser gebracht und am anderen Morgen 10 Uhr zu Versuchen verwandt.

Ein Theil des Materials wurde mit dem Samen der eigenen Art befruchtet. Sofort erfolgte Abhebung der Eihaut mit Aus-

nahme weniger Eier, an welchen der Erfolg der Befruchtung sich allein an der im Dotter auftretenden Spermastrahlung bemerkbar machte.

Zu einem anderen Theile wurde Samen von Sphaerechinus granularis hinzugefügt. Beim grössten Theile der Eier glückte die Kreuzung. Bei mehr als der Hälfte war die Eihaut nach wenigen Minuten abgehoben; bei dem Rest war fast überall eine Spermastrahlung wahrzunehmen; nur ein geringer Prozentsatz blieb unbefruchtet. Nach Verlauf von zwei Stunden waren fast sämmtliche Eier in Folge der Kreuzbefruchtung in zwei oder vier Stücke getheilt; von Interesse war es, zu sehen, dass einige Eier noch auf dem Hantelstadium standen. Es geht daraus hervor, dass hier und da auch noch nachträgliche Befruchtungen durch die im Wasser einige Zeit überlebenden Samenfäden erfolgten. Vereinzelte Eier zeigten endlich in Folge des abnormen Eindringens mehrerer Spermatozoen viele Strahlungen.

Als wir um 12 Uhr noch Samen der eigenen Art in das Uhrschälchen hinzufügten, hob sich bei den wenigen Eiern, welche unbefruchtet geblieben waren, alsbald die Eihaut ab und der Entwicklungsprocess verlief in normaler Weise weiter.

Dritte Versuchsreihe.

Die am 17. April 4 Uhr Nachmittags freiwillig entleerten Eier eines frisch eingefangenen Weibchens von Strongylocentrotus lividus, von denen ein Theil schon zur Ausführung successiver Nachbefruchtungen gedient hatte, wurden auch noch zu folgenden 2 Versuchen verwendet:

Erster Versuch. Befruchtung sogleich nach Enleerung der Eier.

Ein Theil des Materials wurde sogleich mit frischem Samen von Sphaerechinus granularis versetzt und dadurch die Befruchtung etwa bei dem siebenten Theil der Eier hervorgerufen.

Zweiter Versuch. 18 Stunden nach Entleerung der Eier.

Der Rest wurde bis zum folgenden Tage in Meerwasser aufgehoben und am 18. April 10 Uhr in 2 Partien getheilt. Die eine Partie erwies sich bei dem Zusatz des Samens der eigenen Art als noch vollständig lebenskräftig. Fast überall war die Eihaut in normaler Weise abgehoben, nur in wenigen Fällen war sie durch einen kleinen Zwischenraum von der Dotterkugel getrennt oder war die Abhebung eine unvollständige.

Darauf wurde jetzt auch die zweite Partie mit Samen von Sphaerechinus granularis befruchtet. Sofort sah man bei einem Drittheil der Eier die Dotterhaut abgehoben und eine entsprechende Zahl nach zwei Stunden in Theilung begriffen. Am anderen Tage hatten sich zahlreiche Blastulae entwickelt.

Der ungetheilte Rest liess sich zwei Stunden nach geschehener Kreuzbefruchtung, wie der Versuch mit einer kleinen Probe auf dem Objectträger lehrte, noch mit dem Samen der eigenen Art in normaler Weise befruchten.

Dritte Gruppe der Experimente.

Ganz frischer, lebenskräftiger Samen von Sphaerechinus granularis wurde am 19. April 11 Uhr in ein Uhrschälchen entleert, mit Wasser verdünnt und sogleich zur Befruchtung mehrerer Portionen von Eiern verwendet, welche von verschiedenen Weibchen abstammten und ungleiche Zeiträume nach ihrer Entleerung aus den Ovarien im Meerwasser verweilt hatten. Es sollte durch diese Experimente der Nachweis geführt werden, dass der ungleiche Erfolg der Bastardirung nicht von Verschiedenheiten der angewandten Samenflüssigkeiten, sondern von Verschiedenheiten des Eimaterials herrührt.

Erster Versuch. Befruchtung sogleich nach Entleerung der Eier.

Die eine Portion der zu der Versuchsserie bereit gehaltenen Eier war eben aus den strotzend gefüllten Eierstöcken eines frisch eingefangenen Weibchens entleert worden. Hier hatte der Zusatz des fremden Samens, wie zu erwarten war, fast gar keine Wirkung. Nach vier Stunden konnten nur sehr wenige getheilte Eier bemerkt werden.

Zweiter Versuch. 26 Stunden nach Entleerung der Eier.

Eine andere Portion von Eiern entstammte einem gesunden Weibchen und war vom 18. April 9 Uhr an in Meerwasser aufgehoben worden. In diesem Falle hatte sich etwas weniger als die Hälfte der Eier, einige Stunden nach Vornahme der Kreuzung, entwickelt. Darunter waren auch einige Abnormitäten zu bemerken.

Dritter Versuch. 43 Stunden nach Entleerung der Eier.

In einem dritten Uhrschälchen befanden sich Eier, welche schon

am 17. April 4 Uhr von einem frisch eingefangenen Weibchen entleert worden waren [1]). In Folge der Kreuzung mit Samen von Sphaerechinus entwickelte sich von ihnen etwa nur der dritte Theil. Die übrigen zwei Drittheile waren indessen noch lebenskräftig. Denn bei Vornahme eines Versuchs liessen sie sich durch Samen der eigenen Art noch in normaler Weise, wenige Fälle ausgenommen, befruchten.

Vierter Versuch. 13 Stunden nach Entleerung der Eier.

Eine vierte Portion von Eiern endlich, welche zu der vorliegenden Versuchsserie diente, rührte von einem schon länger gefangenen und daher wahrscheinlich kranken Weibchen und war erst am Abend des vorhergehenden Tages vom Thiere freiwillig entleert worden. Der Ausfall des Versuchs unterschied sich in Folge dessen etwas von den eben referirten. Fast überall erfolgte die Befruchtung, jedoch ohne Abhebung der Dotterhaut. Nach einigen Stunden waren zahlreiche getheilte Eier anzutreffen, andere waren pathologisch verändert, indem mehrere Spermatozoen in sie eingedrungen waren. Diese zeigten theils viele Strahlungen in einer noch zusammenhängenden Protoplasmamasse, theils waren sie in unregelmässiger Weise zerklüftet.

B. Modificirte Bastardbefruchtung der Eier von Sphaerechinus granularis durch Samen von Strongylocentrotus lividus.

Erste Versuchsreihe.

Das Weibchen, welches zum Versuch benutzt wurde, war schon einige Zeit in Gefangenschaft gehalten worden, so dass die Eier aller Wahrscheinlichkeit nach nicht mehr die Lebensenergie besassen wie Eier von frisch gefangenen Thieren. Als das Thier geöffnet wurde, entleerte es aus den strotzenden Eierstöcken grosse Quantitäten völlig gesund aussehender Eier, welche mit Sperma derselben Art versetzt unter vollständig abgehobener Eimembran befruchtet wurden.

Der Samen von Strongylocentrotus lividus wurde jedesmal neu dem Hoden desselben Thieres entnommen, die milchige Flüssigkeit stark verdünnt und mittelst eines Röhrchens auf die Eier übertragen.

---

[1]) Ein anderer Theil dieses Eimaterials hat zu den Seite 13 u. 18 referirten Versuchen gedient.

Erster Versuch. $\frac{1}{2}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Eine halbe Stunde nach der Entleerung wurde ein kleiner Theil der Eier in einem besonderen Uhrschälchen befruchtet. Das Resultat war gleich von Anfang an ein günstiges, indem etwa $\frac{1}{3}$ mit vollkommen abgehobener Dottermembran befruchtet wurde. Um nun den Nachweis zu führen, dass die übrigen $\frac{2}{3}$ nicht gelitten hatten, wurde eine kleine Quantität derselben herausgenommen und mit Samen derselben Art befruchtet, worauf sich die Eihaut überall rasch und vollständig abhob. Das Uhrschälchen mit bastardirten Eiern wurde dann noch einmal am folgenden Tage controlirt; es ergab sich, dass die Eier, welche nicht befruchtet worden waren, auch nicht nachträglich angegangen waren; die befruchteten hatten sich dagegen zu kräftigen Blastulae weiter entwickelt.

Zweiter Versuch. $2\frac{1}{2}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Nach weiteren 2 Stunden, im Ganzen somit $2\frac{1}{2}$ Stunden nach der Ablage wurde eine neue Quantität Eier mit Sperma von Str. lividus versetzt. Die Zahl der befruchteten Eier war eine erheblich grössere als bei No. I, sie betrug die Hälfte, vielleicht sogar mehr als die Hälfte; überall besassen die befruchteten Eier ein normales Aussehen, indem die Dotterhaut ringsum weit abgehoben war. Eine kleine Probe in normaler Weise befruchtet ergab auch hier, dass die nicht angegangenen Eier lebensfrisch waren und sich gut mit eigenem Sperma befruchten liessen. Die Untersuchung der bastardirten Eier am andern Tage liess erkennen, dass die meisten als Blastulae im Wasser herumschwammen und nur wenige unbefruchtet am Boden lagen. Es mussten somit zahlreiche Eier noch nachträglich von dem überlebenden Sperma von St. lividus befruchtet worden sein.

Dritter Versuch. $4\frac{1}{2}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Vier und eine halbe Stunde nach der Entleerung wurde ein grösseres Quantum Eier genommen und in zwei Portionen getheilt, von denen die eine mit Samen von Sph. granularis, die andere mit Samen von Str. lividus versetzt wurde; in beiden Schalen traten ganz dieselben Erscheinungen ein; die Eihaut wurde nur unvollständig abgehoben; jedoch musste man aus der im Dotter auftretenden Spermastrahlung schliessen, dass alle Eier ganz gleichmässig befruchtet worden waren. Im Wesentlichen fand dieses Resultat auch am folgenden Tage seine Bestätigung, indem das Wasser von Blastulae wimmelte, während nur äusserst spärliche Eier unbefruchtet am Boden lagen.

Vierter Versuch. 24 Stunden nach Entleerung der Eier.

Die Untersuchungen wurden an dem betreffenden Tage abgebrochen und am folgenden Tage 24 Stunden nach Entleerung der Eier wieder aufgenommen. Die Eier waren noch befruchtungsfähig, doch hob sich die Eihaut, gleichgiltig, ob Sperma von Sphaerechinus granularis oder von Strongylocentrotus lividus angewandt wurde, gar nicht mehr oder sehr unvollständig ab; leider haben wir nicht darauf geprüft, ob Polyspermie eintrat. Auch sonst verhielten sich beide zum Versuch angewandte Portionen vollkommen gleichförmig. Die Theilungen traten sehr unregelmässig ein, so dass man auf demselben Praeparat 4, 8 und 16 Theilungen wirr durcheinander traf. Ein Unterschied machte sich erst am Tage darauf geltend, indem von den kreuzbefruchteten Eiern eine wenn auch kleine Zahl nicht angegangen war, während die übrigen sich zu normalen Blastulae entwickelt hatten. Von den normal befruchteten Eiern waren dagegen alle entwickelt, indessen einige in pathologischer Weise, so dass unter den regulären Blastulae auch einige monströse Formen schwammen.

Fünfter Versuch. 28 Stunden nach Entleerung der Eier.

Der Rest der Eier wurde 28 Stunden nach der Entleerung abermals in zwei Theile getheilt, der eine Theil bastardirt, der andere in normaler Weise befruchtet. Auch hier gaben sich zunächst keine Unterschiede zu erkennen. Beiderlei Eier wurden — ohne Abhebung der Eihaut — wahrscheinlich mehrfach befruchtet und nahmen dann ein so unregelmässig höckriges Aussehen an, dass wir schon glaubten, sie würden absterben. Dem war aber nicht so, vielmehr war am Tage darauf eine Weiterentwickelung zu Blastulae eingetreten. Jetzt war auch ein Unterschied zwischen beiden Partieen erkennbar. Unter den bastardirten Eiern hatten sich viele nicht entwickelt, der Rest hatte normale Blastulae ergeben; in der anderen Portion waren so gut wie keine Eier unentwickelt geblieben, dafür waren aber unter den Blastulae ziemlich viele pathologische Formen.

Zum Schluss wurden sämmtliche durch Bastardbefruchtung erzielten Blastulae in ein und dasselbe Glas zusammengegossen und dieses bei Seite gesetzt. Trotzdem ihnen keine weitere Sorgfalt zu Teil wurde, entwickelten sie sich im Laufe der folgenden Tage zu schönen lebensfrischen Pluteuslarven.

Zweite Versuchsreihe.

Zur zweiten Versuchsreihe konnte ein frisch gefangenes Weibchen verwandt werden, welches reichliche und völlig reife Eier lieferte.

Erster Versuch $\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Die erste Befruchtung wurde schon $\frac{1}{4}$ Stunde nach der Entleerung der Eier vorgenommen und hatte so gut wie gar keinen Erfolg, obwohl die Befruchtung mit Sperma der eigenen Art vollständige Befruchtungsfähigkeit ergab. Nach einiger Zeit geprüft, fanden sich äusserst wenige zweigetheilte Eier mitten in Haufen von Eiern, welche sich gar nicht verändert hatten.

Zweiter Versuch $1\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Nach Verlauf einer Stunde wurde ein neuer Versuch gemacht, ohne dass sich eine erhebliche Veränderung herausgestellt hätte. Auch jetzt wurden nur wenige Eier befruchtet.

Dritter Versuch $2\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Nach einer weiteren Stunde Wartens ergab sich eine erhebliche Zunahme der Zahl der Eier, welche sich mit dem Sperma von Str. lividus befruchten liessen; immerhin waren es noch keine 10 $\frac{0}{0}$, diese aber vollkommen regelrecht befruchtet mit weit abgehobener Eihaut.

Vierter Versuch $4\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Dieser Versuch ist leider durch einen unglücklichen Zufall verloren gegangen, bevor sein Resultat geprüft werden konnte.

Fünfter Versuch $6\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Von jetzt ab änderten sich die Verhältnisse; die Zahl der befruchteten Eier überschritt die Zahl der unentwickelten, welche nach ungefährer Schätzung nur etwa $\frac{1}{3}$ der Gesammtzahl betrug. Bei sämmtlichen befruchteten Eiern war die Eihaut abgehoben.

Am folgenden Tag, im Ganzen 25 Stunden nach Entleerung der Eier, wurde das zum fünften Versuch verwandte Material auf 2 Uhrschälchen vertheilt, die eine Hälfte mit frischem Samen der eigenen Art, die andere mit frischem Samen von Str. lividus zum 2ten Mal befruchtet. Beide Portionen verhielten sich nahezu gleich, indem hier wie dort zahlreiche Befruchtungen der unentwickelt gebliebenen Eier noch nachträglich erzielt wurden, so dass nunmehr nur noch etwa $\frac{1}{6}$ unbefruchtet waren. Die neu befruchteten Eier waren sofort daran kenntlich, dass sie in der Entwicklung weiter zurück waren, auch war die Eimembran nicht mehr abgehoben.

Sechster Versuch $8\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Nach $8\frac{1}{4}$ Stunden waren die Eier insofern verändert, als bei jeder Art Befruchtung die Eimembran sich zwar noch abhob, aber nur durch einen äusserst schmalen Zwischenraum von der Oberfläche getrennt blieb; dagegen ergab jetzt die Bastardirung sehr günstige Resultate; die Zahl derer, welche unbefruchtet geblieben waren, war eine sehr geringe.

Siebenter Versuch $10\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Noch geringer war die Zahl der unbefruchtet bleibenden Eier nach Verlauf von weiteren 2 Stunden; wir taxirten sie etwa auf 5 %. Dieser Versuch war der letzte an dem betreffenden Tage.

Achter Versuch 25 Stunden nach Entleerung der Eier.

Am folgenden Tage wurde eine Portion der Eier zunächst mit eigenem Sperma auf seine Befruchtungsfähigkeit geprüft. Sie wurden noch alle befruchtet, aber es traten die abnormen Furchungserscheinungen auf, wie sie schon wiederholt beschrieben worden sind. Eine andere Portion wurde mit frischem Sperma von Str. lividus versetzt und entwickelte sich zum gröfseren Theil ebenfalls unter abnormen Furchungserscheinungen; ein nicht geringer Bruchtheil blieb unbefruchtet.

Neunter Versuch 31 Stunden nach Entleerung der Eier.

Nach 31 Stunden wurde der Rest zu einem doppelten Versuch, wie im vorhergehenden Falle, aufverbraucht. Das Ergebniss war ein ähnliches, nur hatte die Zahl der Eier, welche bei der Bastardirung unbefruchtet blieben, sich auf die Hälfte vermehrt; auch war der Verlauf der Theilungen ein noch unregelmässigerer geworden.

Dritte Versuchsreihe.

Ein frisches Weibchen wurde zu einer dritten Versuchsreihe verwandt. Dasselbe hatte offenbar schon abgelaicht und entleerte in Folge dessen nur wenige Eier, unter denen viele unreife waren; die reifen Eier liessen sich mit eigenem Sperma rasch und gut befruchten.

Erster Versuch. Befruchtung sogleich nach Entleerung der Eier.

Die erste Befruchtung mit Samen von Strongylocentrotus lividus wurde gleich nach der Entleerung der Eier ausgeführt und ergab etwa 10 % befruchtete, 90 % unbefruchtete Eier.

Zweiter Versuch 5 Stunden nach Entleerung der Eier.

Bei der Kreuzung entwickelten sich $\frac{2}{3}$ der Eier, dieselben

reagirten nicht alle gleichmässig auf den Zusatz der Spermatozoen. Bei einem Theil hob sich die Eimembran noch vollständig und weit ab, wenn sich auch der Vorgang langsam abspielte; bei einem anderen Theil der Eier unterblieb die Ablösung der Membran. Setzte man dagegen zu den Eiern Samen derselben Art, so hob sich bei sämmtlichen Eiern die Membran vollständig ab.

Dritter Versuch 7 Stunden nach Entleerung der Eier.

Dieser Versuch, zugleich der letzte, welcher bei dem geringen Eimaterial ausgeführt werden konnte, führte bei gekreuzter Befruchtung zu denselben Resultaten, wie der vorhergehende.

Vierte Versuchsreihe.

Gleichzeitig mit der beschriebenen Versuchsreihe wurde mit Eiern experimentirt, welche von einem Weibchen stammten, dessen Geschlechtsorgane strotzend gefüllt waren. Die entleerten Eier waren sämmtlich reif und mit eigenem Sperma zu befruchten.

Es ist nicht nöthig, den Versuch ausführlich zu referiren. Bei der ersten Befruchtung mit Sperma von Str. lividus war der Erfolg ein geringer, indem nur 1 % befruchtet wurde. Nach 5 Stunden entwickelte sich bei Kreuzbefruchtung der dritte Theil mit abgehobener Eihaut, nach weiteren 2 Stunden zwei Drittel, doch fing die Abhebung der Eihaut jetzt an eine unvollständige zu werden.

Fünfte, sechste, siebente Versuchsreihe.

Bei einigen Exemplaren begnügten wir uns, das Verhalten der Eier gegen Sperma von Str. lividus gleich kurz nach ihrer Entleerung zu prüfen. Ein Weibchen gab reichlich Eier von sich, als mit der Scheere die Stacheln am aboralen Pole entfernt wurden; von denselben liessen sich 10 % bastardiren.

Ein zweites Weibchen lieferte nur wenige Eier, darunter auch einige unreife und zwar erst nachdem die Schale geöffnet worden war. Der Eierstock war sehr klein. Bei vorgenommener Kreuzbefruchtung kam auf etwa 200 Eier ein befruchtetes, die übrigen liessen sich dann noch mit Sperma der eigenen Art befruchten.

Ein drittes Weibchen endlich zeigte ganz besondere Verhältnisse; es war schon lange Zeit in Gefangenschaft gehalten worden und hatte dabei so gelitten, dass beim Oeffnen der Schale eine äusserst übelriechende Leibeshöhlenflüssigkeit ausfloss, wie das bei Seeigeln leicht eintritt. Da die Eier von dieser Flüssig-

keit direct umspült worden waren, hatten sie allem Anscheine nach erheblich gelitten. Wir wandten sie trotzdem zur Bastardbefruchtung an und konnten dabei constatiren, dass kein einziges sich entwickelte. Indessen auch die Befruchtung mit Samen der eigenen Art erwies sich wenig wirksam, indem nur wenige und auch diese nur langsam befruchtet wurden. Wir übertrugen daher die Eier in frisches Wasser und erneuerten dasselbe von Zeit zu Zeit, ein Verfahren, welches offenbar den günstigsten Einfluss ausübte. Bei normaler Befruchtung entwickelten sich bald sämmtliche zur Probe verwandten Eier, die Abhebung der Membran erfolgte immer rascher und normaler. Auch die Fähigkeit zur Kreuzbefruchtung steigerte sich, so dass schliesslich fast $\frac{2}{3}$ der zum Versuch herausgenommenen Eier sich in vollkommen regelmässiger Weise entwickelten.

C. Kreuzung der Eier von Sphaerechinus granularis mit Sperma von Echinus mikrotuberculatus.

Da die Exemplare von E. mikrotuberculatus in der Geschlechtsreife noch weit zurück waren, boten sie kein geeignetes Untersuchungsmaterial. Wir beschränkten uns daher auf einige orientirende Beobachtungen, welche ergaben, dass eine Befruchtung der Eier von Sph. granularis durch Sperma von E. mikrotuberculatus leichter gelingt, als durch Samen von Strongylocentrotus lividus. Wir haben stets nur frisch entleerte Eier von Sph. granularis benutzt, aber obwohl die Reife des Samens von E. mikrotuberculatus manches zu wünschen übrig liess, war die Zahl der Befruchtungen doch eine grössere.

D. Kreuzung der Eier von Echinus mikrotuberculatus mit Samen von Sphaerechinus granularis.

Wiederholt haben wir Versuche gemacht, die Eier von E. mikrotuberculatus mit Samen von Sph. granularis zu befruchten, ohne aber dabei wesentliche Erfolge zu erzielen. Kurz nach der Entleerung der Eier trat gar keine Befruchtung ein, nach Verlauf einiger Stunden war es möglich, einige wenige Eier zu befruchten, aber niemals ist es uns geglückt, die Zahl derselben erheblich zu steigern. Wir müssen freilich auch hier wieder betonen, dass unser Untersuchungsmaterial nicht auf der Höhe der Geschlechtsreife stand, im Allgemeinen daher auch für die Versuche nicht günstig war.

II. Allgemeiner Theil.

Die von uns mitgetheilten Experimente haben zum Theil zu ähnlichen Resultaten geführt, wie sie schon von anderer Seite bei Vornahme von Kreuzungsversuchen erhalten worden sind, theils haben sie eine neue Seite der Bastardirungsfrage abgewonnen, wie ein Ueberblick über die bezügliche Literatur uns zeigen wird.

Die Echiniden sind schon mehrfach, da sie ausserordentlich geeignete Objecte sind, zu Kreuzungsversuchen gebraucht worden. Marion, Köhler und Stassano haben sich mit ihnen beschäftigt.

Ersterer [1]) hat bei Kreuzung von Strongylocentrotus lividus und Sphaerechinus granularis Larven erhalten, welche er bis zum Pluteusstadium züchten konnte. Köhler [2]) hat in systematischer Weise Kreuzungen zwischen Strongylocentrotus lividus, Sphaerechinus granularis, Psammechinus pulchellus, Dorocidaris papillata und Spatangus purpureus vorgenommen und Verschiedenheiten in der Weise beobachtet, dass die Kreuzbefruchtung hier fast überall, dort in wenigen Fällen, dort gar nicht eintrat, dass bald die Bastardeier sich nur bis zum Blastulastadium, bald bis zur Gastrula, bald bis zum Pluteus entwickelten, dass hier die Bastardirungsfähigkeit eine einseitige, dort eine reciproke war. Der Italiener Stassano [3]) endlich hat vier Arten gekreuzt: Arbacia pustulosa, Echinocardium cordatum, Echinus mikrotuberculatus und Sphaerechinus granularis, und unter anderen Erscheinungen gefunden, dass die Befruchtung mit Sperma der eigenen oder fremden Art einen Einfluss auf den rascheren oder langsameren Verlauf der Theilung hat, dass die Eier auf die zugehörigen Spermatozoen eine grössere Anziehung als auf fremde ausüben, indem sie in ersterem Falle von solchen ganz bedeckt werden, in letzterem dagegen fast ganz verlassen bleiben.

Besonders wichtige Resultate für die Bastardirungsfrage sind

---

[1]) M. Marion, Comptes rendus 1873, 14 avril.

[2]) Köhler, Sur quelques essais d'hybridation entre diverses espèces d'Echinoidées. Comptes rendus 1882. T. XCIV pag. 1203.

[3]) Stassano, Contribuzione alla fisiologia degli spermatozoidi. Zoologischer Anzeiger 1883, pag. 393.

in den letzten Jahren von Pflüger und Born durch Untersuchung der Batrachier gewonnen worden, daher wir dieselben hier auch in den Kreis unserer Betrachtung hineinziehen wollen.

Nachdem schon früher Rusconi, De l'Isle und Lataste die geschwänzten Amphibien zu bastardiren versucht hatten, nahm Pflüger [1]) wieder im Jahre 1882 eine Reihe verschiedener Kreuzungen vor: 1) der Rana fusca mit Bufo vulgaris, 2) der Rana fusca mit Rana esculenta, 3) verschiedener Tritonarten unter einander, 4) der Rana fusca mit Triton alpestris und Triton taeniatus. Die erste Versuchsreihe ergab, dass der Same von Rana fusca auf die Eier der gemeinen Erdkröte stets energisch einwirkte, in der Weise, dass sie sich anscheinend regelrecht theilten und bis zum Morulastadium entwickelten, dann aber bald ohne Ausnahme abstarben und zerfielen. Wenn dagegen Sperma der Erdkröte mit Eiern von Rana fusca zusammengebracht wurde, erfolgte keine Theilung; nur in einem Experimente, dessen Beweiskraft von Pflüger angezweifelt wird, fanden sich unter circa 100 Eiern zwei mit unsymmetrischer Furchung.

Ein ähnliches Verhältniss konstatirte Pflüger zwischen Rana fusca und Rana esculenta. Eier der ersten Art in Wasserextract des Hodens von Rana esculenta versenkt, blieben stets unbefruchtet. Als jedoch Eier von Rana esculenta mit Samenwasser vermischt wurden, welches aus dem Hoden von Rana fusca bereitet worden war, entwickelten sie sich in regelrechter Weise mit Ausnahme einzelner, die sich abnorm theilten; nachdem aber das Blastulastadium erreicht war, starben sie auch wieder ohne Ausnahme ab.

In der dritten Versuchsreihe, Kreuzung der verschiedenen Tritonarten unter einander, blieben alle Versuche erfolglos. Um so bemerkenswerther war das Resultat der vierten Versuchsreihe. Eier des braunen Grasfrosches liessen sich mit Samen des Triton alpestris und des Triton taeniatus, stets aber nur in abnormer Weise, befruchten, indem sich nach einiger Zeit die sonderbarsten Furchungslinien und Risse im Dotter bildeten. Immer trat frühzeitiges Absterben der Eier ein. Auch zeigte bei allen Bastardbefruchtungen eine bald grössere, bald kleinere Zahl von Eiern keine Spur von Furchung, während sich bei der normalen Befruchtung fast alle furchten.

---

[1]) E. Pflüger, Die Bastardzeugung bei den Batrachiern. Archiv f. d. gesammte Physiologie Bd. XXIX.

Eine Bastardirung in entgegengesetzter Richtung von Eiern der Tritonen mit Samen von Rana fusca war nicht möglich.

Bei seinen Versuchen erhielt Pflüger noch ein anderes bemerkenswerthes Resultat: Er fand nämlich, dass die Kreuzung zwischen den Eiern von Rana fusca und Triton nicht zu jeder Zeit glückte, dass während vor dem 23. April fast alle Versuche ein positives Resultat ergaben, nach dem 23. April alle negativ ausfielen. Er erklärt diese Erscheinung daraus, dass die Eier den Höhepunkt ihrer Entwicklung überschritten hatten, und stellt den Satz auf:

„Wenn Bastardbefruchtung ein positives Ergebniss erzielen soll, so müssen Ei und Same auf dem Höhepunkt ihrer Entwickelung und Empfänglichkeit für die Zeugung angelangt sein. Zu einer Zeit, wo das Ei auf den Samen der eigenen Art noch kräftig reagirt und sich in normaler Weise entwickelt, kann es die Empfänglichkeit für den Samen einer anderen Art, für die Bastardbefruchtung, bereits total verloren haben."

Eine nicht minder interessante und wichtige Reihe von Untersuchungen verdanken wir den Bemühungen von Born[1]), welcher hauptsächlich mit Rana arvalis und Rana fusca, mit Bufo communis und Bufo variabilis, mit Bufo communis und Rana fusca experimentirt hat und zu folgenden Ergebnissen gelangt ist:

„Unter gewissen Bedingungen lassen sich die Eier von Rana arvalis mit Samen von Rana fusca befruchten, sie furchen sich regulär ab und lassen sich bis zur Umwandlung aufziehen. Das Gelingen der Bastardirung hängt in ausserordentlicher Weise von dem Umstande ab, dass die benutzten Thiere sich auf der vollen Höhe der Brunst befinden. In mehreren Versuchen zeigte sich die bastardirende Kraft des Samens der einheimischen Rana fusca für Eier von Rana arvalis vollständig erschöpft. Desgleichen wird die Bastardirung in merkwürdiger Weise von der Concentration der benutzten Samenflüssigkeit beeinflusst; bei Verdünnungen der Samenflüssigkeiten, welche bei normaler Befruchtung noch die besten Resultate geben, erfolgt bei der Bastardirung so gut wie gar keine Furchung. Bei geringerer Verdünnung furcht sich die Mehrzahl der Eier nach dem regulären Typus; mit ganz unvermischtem Samen wird eine eigenthümliche Art von ganz unregelmässiger Furchung hervorgerufen, die durch das gleichzeitige Auf-

---

[1]) Born, Beiträge zur Bastardirung zwischen den einheimischen Anurenarten. Archiv f. Physiologie Bd. XXXII.

treten zahlreicher polygonaler Felder ausgezeichnet ist und zur schleunigen Decomposition der Eier führt.“ BORN bezeichnet dieselbe als Barockfurchung und hat über sie in einer vorläufigen Mittheilung [1]) kürzlich berichtet, dass sie durch das gleichzeitige Eindringen zahlreicher Spermatozoen hervorgerufen werde.

Zum Theil ähnliche Resultate gewann BORN an anderen Objecten, worüber das Nähere aus der citirten Abhandlung zu ersehen ist. — Er sucht nun für den ungleichen Ausfall der Bastardirung bei verschiedenen Arten, sowie für die Ungleichheit des Resultats, welches je nach der Concentration der angewandten Samenflüssigkeit erhalten wird, einen Erklärungsgrund in der ungleichen Beschaffenheit der Spermatozoen. Er macht aufmerksam auf die verschiedene Form des Samenfadenkopfes bei Rana fusca, Rana arvalis und esculenta, Bufo und Bombinator, sowie darauf, dass die Spermatozoen entfernter stehender Arten, die sich bastardiren lassen, einander oft ähnlicher sind, als diejenigen nahe verwandter. In Zusammenhang hiermit schreibt er ihnen eine verschiedene Fähigkeit zu in Bezug auf das Durchdringen durch verschieden gebaute Gallerthüllen.

Ausserdem aber glaubt BORN auch noch namentlich zur Erklärung der Erscheinungen der regulären oder irregulären Furchung uns unbekannte individuelle Verschiedenheiten zwischen den Spermatozoen ein und derselben Art annehmen zu müssen, in Folge dessen die Eier in ungleicher Weise auf sie reagiren. So laufen nach BORN's Ansicht die Vorgänge, die durch das Nahen oder Eindringen der ersten Spermatozoen der eigenen Art im Ei angeregt werden und die dazu führen, die nachfolgenden Spermatozoen auszuschliessen, bei der Bastardirung auf den inäquaten Reiz der fremden Spermatozoen so langsam und so unvollkommen ab, dass, wie bei FOL's geschwächten Eiern, unter Umständen noch mehrere Spermatozoen einzudringen vermögen und dann einen raschen unregelmässigen Zerfall der Eier in ungleiche, kleine und grosse Theilprodukte hervorrufen.

In demselben Heft des physiologischen Archivs, in welchem BORN's Arbeit erschienen ist, hat PFLÜGER [2]) noch eine zweite ausführlichere und an Thatsachen reiche Abhandlung über „die

---

[1]) G. BORN, Ueber die inneren Vorgänge bei der Bastardbefruchtung der Froscheier. Breslauer ärztliche Zeitschrift, 23. August 1884.

[2]) PFLÜGER, Untersuchungen über Bastardirung der anuren Batrachier und die Principien der Zeugung. Archiv f. Physiologie. Bd. XXXII, 1883.

Bastardirung der anuren Batrachier und die Principien der Zeugung" veröffentlicht. Durch Kreuzung von 10 verschiedenen Krötenarten zeigte er, dass bald reciproke, bald nur einseitige, bald gar keine Bastardirung möglich ist; dass mit wenigen Ausnahmen die Bastarde bald absterben, dass Bastardirung zwischen nahe verwandten Arten erfolglos bleiben kann, während sie bei entfernter stehenden möglich ist, dass bei der Kreuzbefruchtung neben regulären immer auch mehr oder minder irreguläre Entwicklungen und unbefruchtete Eier vorkommen.

Indem Pflüger nach den Ursachen des so ungleichen und scheinbar regellosen Erfolges der Kreuzbefruchtung forscht, hält er es für sehr wahrscheinlich, dass die irreguläre Furchung sowohl als der ganz negative Erfolg bei der Kreuzung der Anuren nur secundären und nebensächlichen Complicationen ihren Ursprung verdanken. Das wahre Gesetz sei wahrscheinlich: „reciproke Fruchtbarkeit bei allen Arten mit normaler Furchung und — mit seltenen Ausnahmen — Absterben während der ersten Entwicklung." Doch sollen sich die Geschlechtsprodukte nur während kurzer Zeit in einem Stadium befinden, in welchem sie sich zur Bastardirung eignen. „Dieses Stadium", bemerkt Pflüger, „fällt in die Hochbrunst. Nach Ablauf derselben reagiren dieselben Eier noch ganz normal auf den Samen der eigenen Art. Diese Thatsache zeigt, dass auch das unbefruchtete Ei und der Same vor der Befruchtung in einer continuirlichen inneren Veränderung begriffen sind. Scharf ausgesprochen und sehr auffallend ist dieses Gesetz für das Ei gültig, während der Same viele Wochen vor und nach der Hochbrunst noch immer Bastardbefruchtung ermöglicht."

Die so häufig zu beobachtende Einseitigkeit der Bastardbefruchtung führt auch Pflüger auf grob mechanische, secundäre Ursachen zurück. In ähnlicher Weise wie Born legt er ein besonderes Gewicht auf die Beschaffenheit der Spermatozoen, indem er glaubt constatirt zu haben, dass 1) im Allgemeinen diejenigen Spermatozoen am geeignetsten sind zur Vermittelung der Bastardzeugung, deren Kopf am dünnsten und deren vorderes Ende am spitzesten ist; und dass 2) im Allgemeinen die Eier der Bastardbefruchtung am zugänglichsten sind, wenn die zugehörigen Spermatozoen derselben Art dickere Köpfe haben."

Zu dieser Erklärung wurde Pflüger veranlasst, weil die Spermatozoen von Rana fusca, die fast alle Eier befruchten, unter allen Arten den dünnsten Kopf haben, der ausserdem sehr spitz

ausläuft, weil ferner die dickköpfigsten Spermatozoen mit stumpfer vorderer Spitze, wie diejenigen von Rana arvalis und R. esculenta, kein fremdes Ei befruchten können. Am meisten aber findet er seine Ansicht dadurch bestätigt, dass gerade die beiden Arten, welche Spermatozoen mit gleich geformten und gleich grossen Köpfen besitzen, Rana esculenta und R. arvalis, vollkommen reciproke Bastardbefruchtung zeigen. Pflüger setzt daher bei den Eiern die Anwesenheit einer Mikropyle voraus, die gerade so weit ist, dass das Spermatozoon der eigenen Art passiren kann.

Die Unregelmässigkeit der Furchung glaubt Pflüger nicht auf das Eindringen vieler Spermatozoen, wie Born annimmt, zurückführen zu müssen, sondern eher darauf, dass bei allen Bastardirungsversuchen dem fremden Samen ein besonderes Hinderniss im Wege stehe, um zu dem Eie vorzudringen, zum Beispiel, die Beschaffenheit der Gallerthülle oder die Enge der Mikropyle. Er denkt sich den Vorgang so, dass Samenfäden auf ihrem Wege stecken bleiben, obwohl schon die Spitze des Kopfes in den Dotter eingedrungen ist, während der übrige Theil des Kopfes noch in der Eihaut und der umgebenden Gallerte haftet, oder dass bei Vorhandensein einer Mikropyle die Spitze des Kopfes eindringt und den Dotter erreicht, der dickere Theil des Kopfes aber wegen Enge der Mikropyle sich festkeilt. In derartigen Fällen soll der in den Dotter eingedrungene Theil des Kopfes eines plötzlich festgehaltenen Spermatozoons in Partikel zerfallen und dadurch die Bedingung zu abnormer Furchung geben. Den Vorgang, in welchem nur in grösserer Zahl abgerissene Theile eines Spermatozoon befruchten, nennt Pflüger eine „fractionirte Befruchtung“.

Nach diesem historischen Überblick wenden wir uns zur Besprechung der allgemeinen Resultate, welche sich aus unseren eigenen Experimenten und aus denen der angeführten Forscher gewinnen lassen, wobei sich zugleich in mehrfacher Hinsicht Übereinstimmungen, in anderer Hinsicht Differenzpunkte ergeben werden.

Übereinstimmung findet statt in der Feststellung folgender allgemeiner Erscheinungen, welche in gleicher Weise bei der Bastardirung der Amphibien und der Echinodermen wiederkehren.

Erstens: Das Gelingen oder Nichtgelingen der Bastardirung hängt nicht ausschliesslich von dem Grade der systematischen Verwandtschaft der gekreuzten Arten ab.

Wir können beobachten, dass Arten, die in äusserlichen Merkmalen sich kaum von einander unterscheiden, sich nicht kreuzen lassen, während es zwischen relativ entfernt stehenden, verschiedenen Familien und Ordnungen angehörenden Arten möglich ist.

Die Amphibien liefern uns hier besonders treffende Beispiele. Rana arvalis und Rana fusca stimmen in ihrem Aussehen fast vollständig überein, trotzdem lassen sich die Eier der letzteren mit dem Samen der ersteren nicht befruchten, während in einzelnen Fällen Befruchtung mit dem Samen von Bufo communis und sogar von Triton möglich war. Dieselbe Erscheinung liess sich, wenn auch weniger deutlich bei den Echinodermen constatiren.

Immerhin muss aber im Auge behalten werden, dass die systematische Verwandtschaft für die Möglichkeit der Bastardirung ein wichtiger Factor ist. Denn zwischen Thieren, die soweit auseinander stehen, wie Amphibien und Säugethiere, Seeigel und Seesterne, ist noch niemals eine Kreuzbefruchtung erzielt worden.

Dafür, dass ausser dem Grade der systematischen Verwandtschaft auch noch andere Factoren ins Spiel kommen, spricht nichts deutlicher als die **zweite Reihe** der allgemeinen Erscheinungen, welche wir in Übereinstimmung mit Pflüger und Born auch bei den Echinodermen haben constatiren können. In der Kreuzbefruchtung zweier Arten besteht sehr häufig keine Reciprocität.

Alle möglichen Abstufungen finden sich hier. Während Eier von Echinus microtuberculatus sich durch Samen von Strongylocentrotus lividus fast ohne Ausnahme befruchten lassen, wird bei Kreuzung in entgegengesetzter Richtung nur in wenigen Fällen eine Entwickelung hervorgerufen. Die Befruchtung frischen Eimaterials von Strongylocentrotus lividus durch Samen von Arbacia pustulosa bleibt erfolglos, dagegen entwickeln sich von Arbacia pustulosa immerhin einige Eier, wenn ihnen Samen von Strongylocentrotus lividus hinzugefügt wird, und so ähnlich noch in anderen Fällen. Es ist zur Zeit somit gar nicht möglich, gesetzmässige Beziehungen zwischen Bastardirungen in entgegengesetzter Richtung nachzuweisen.

Sicher gestellt ist endlich eine **dritte** Thatsache! Für das Gelingen oder Nichtgelingen der Bastardirung ist die jeweilige Beschaffenheit der zur Kreuzung verwandten Geschlechtsproducte von Wichtigkeit.

PFLÜGER und BORN haben bei den Amphibien, wir bei den Echinodermen nachgewiesen, dass die Eier einer Art A sich mit dem Samen B unter bestimmten Verhältnissen und zu bestimmten Zeiten kreuzen lassen, in anderen Fällen wieder nicht. In den Geschlechtsproducten ist, wenn man so sagen darf, eine veränderliche Disposition für die Bastardirung vorhanden. Dies lässt sich schon aus dem einfachen Umstande, der bei allen Versuchen wird beobachtet werden können, erschliessen, dass von Eiern, die bastardirt werden sollen, sich immer nur ein grösserer oder geringerer Procentsatz entwickelt, während der Rest gegen den Samen der anderen Art unempfänglich ist, sich aber bei Zusatz von Samen der eigenen Art sofort befruchten lässt. Nur selten sind solche Fälle, in denen sich die Eier einer Art ausnahmslos gegen fremden Samen, ganz ebenso wie gegen eigenen verhalten. Bei allen von uns untersuchten Echinodermenarten trat dies nur ein bei den Eiern von Echinus mikrotuberculatus, wenn sie mit Samen von Strongylocentrotus lividus befruchtet wurden.

Während wir in den eben angeführten drei Sätzen zu denselben Ergebnissen, wie PFLÜGER und BORN gelangt sind, ergeben sich Meinungsverschiedenheiten in einigen anderen nicht minder wichtigen Punkten.

So weichen wir erstens von PFLÜGER und BORN ab bei der Beantwortung der Frage: welches von beiden Geschlechtsproducten das veränderliche ist, und wie sich die Veränderlichkeit in den verschiedenen Stadien der Entwickelung äussert.

Nach PFLÜGER und BORN eignen sich die Sexualproducte am meisten zur Bastardirung auf der Höhe der Brunst, das heisst: zur Zeit, in welcher sich aller Wahrscheinlichkeit nach die Geschlechtsproducte auf der Höhe ihrer Entwickelung befinden und somit die grösste Lebensenergie besitzen.

Zu Gunsten dieser Ansicht führt PFLÜGER Versuche an, die am 21. und 22. April angestellt wurden und das auffallende Resultat ergaben, dass kein Ei der Rana arvalis mehr durch den Samen der Rana fusca befruchtet werden konnte, obwohl dies vorher in ergiebiger Weise möglich war, und obwohl dieselben Eier sehr energisch auf den Samen der eigenen Art, ja sogar auf den Samen der Rana esculenta reagirten.

BORN berichtet, dass in seinen Bastardirungsversuchen zuerst die Männchen der einheimischen Rana fusca versagten. „Am

26. April gelang mit denselben“, heisst es in der oben angeführten Abhandlung, „keine einzige Bastardirung mehr, während, wie ich aus anderen Versuchen weiss, der Samen der Rana fusca für die Eier der eigenen Art noch wirksam war. Am 25. April war mit einem Männchen noch eine Bastardirung gelungen, die andere nicht. Auch schon in den vorhergehenden Tagen war ein Nachlassen der Wirkung des Samens der Rana fusca im Vergleich zu dem ersten Versuch, der noch während der eigentlichen Brunstzeit ausgeführt wurde, die dieses Jahr hier etwa am 20. April ablief, merklich. Die Eier der Rana arvalis furchten sich bis zum 26. April nicht nur bei Zusatz der (verdünnten) Samenflüssigkeit der eigenen Art in fast vollkommener Weise, sondern liessen sich noch am 28. April mit der Samenflüssigkeit frisch angelangter Schweizer Frösche, die sich noch in Brunst befanden, mit gleichem Erfolge wie im ersten Versuche bastardiren, obgleich zur selben Zeit auch kein einziges trächtiges Weibchen von Rana arvalis im Freien mehr aufzutreiben war“.

In den Angaben von Pflüger und Born ist ein Differenzpunkt bemerkenswerth. Pflüger legt das Hauptgewicht darauf, dass sich vornehmlich die Eier auf dem Höhepunkt ihrer Entwickelung befinden. Das von ihm aufgestellte Gesetz, bemerkt er, sei besonders für das Ei gültig, während der Same viele Wochen vor und nach der Hochbrunst noch immer Bastardbefruchtung ermögliche. Demgemäss leitet er auch die von Born erzielten besseren Bastardirungsresultate von dem Umstande ab, dass dieser frischere Eier der Rana arvalis benutzen konnte.

Born dagegen lässt in der befruchtenden Kraft des zur Bastardirung verwandten Sperma Veränderungen eintreten. Auch der Concentration der benutzten Samenflüssigkeit schreibt er eine Bedeutung für den Erfolg der Bastardirung zu. Nach seinen Beobachtungen haben Verdünnungen des Samens oder des Hodensaftes, welche die Eier der eigenen Art ausnahmslos befruchten, auf die Eier der Rana arvalis gar keine Wirkung mehr zur selben Zeit und in denselben Versuchen, wo stärkere Samenflüssigkeiten die Erscheinungen der Barockfurchung hervorriefen.

Das Untersuchungsmaterial, auf welches Pflüger und Born angewiesen waren, hat unzweifelhaft eine Reihe von Nachtheilen, welche bei der Beurtheilung ihrer Resultate in Anrechnung gebracht werden müssen. Erstens ist es schwierig, das ungefähre Alter der Sexualprodukte, namentlich bei den Weibchen, auch nur ungefähr zu bestimmen. Bekanntlich erfolgt die Entleerung der

Eier bei den Batrachiern nur unter Beihülfe des Männchens; ist letztere, wie es doch bei Bastardirungen nicht anders sein kann, ausgeschlossen, so verweilen die Eier im Uterus, bis sie sich zersetzen. Da nun wohl nur in den seltensten Fällen der Zeitpunkt der eigentlichen Eireife, welcher durch die Loslösung der Eier aus dem Ovar und ihren Uebertritt in den Uterus gegeben ist, hat bestimmt werden können, so konnten die genannten Forscher auch nicht ermitteln, in welchem Zeitpunkt der Entwicklung sich das Eimaterial ihrer Experimente befand, wie weit es sich der Zeit des Zerfalls genähert hatte.

Ein zweiter Uebelstand ist darin gegeben, dass die Sexualprodukte der Amphibien unter dem Einfluss der Gefangenschaft leiden. Wie viel mehr müssen dieselben alterirt werden, wenn sich zu diesen Nachtheilen noch die schädigenden Einflüsse eines Transports auf weite Strecken hinzugesellen.

Drittens ist der Experimentator bei den meisten Amphibien auf einen kurzen Zeitraum angewiesen, da die Geschlechtsthätigkeit sich auf den Zeitraum weniger Wochen zusammendrängt.

In allen diesen Punkten bieten die Echinodermen günstigere Bedingungen. Man findet hier zu jeder Zeit, wenn auch nicht immer gleich häufig, geschlechtsreife Thiere, da jedes Thier wiederholt im Jahr, wie es scheint, in vierwöchentlichen Intervallen seine Sexualprodukte zur Reife bringt. Die Eier werden aus dem Ovar direct nach aussen entleert, auch wenn nicht die Nähe eines Männchens als Reiz wirkt. Man findet endlich Thiere von verschiedenen Arten gleichzeitig geschlechtsreif. Das sind die Gründe, warum wir wesentlich andere und vor Allem constantere Resultate erzielt haben als Pflüger und Born, und weshalb wir glauben, für dieselben grössere Sicherheit beanspruchen zu können.

Unsere Resultate sind nun folgende:

Der verschiedene Erfolg der Bastardirungsexperimente hängt fast ausschliesslich von der Veränderlichkeit der Eier ab.

Am schlagendsten geht dies hervor aus unseren Experimenten, die nach der Methode der successiven Nachbefruchtung vorgenommen wurden. Da die Echinodermeneier sich, ohne ihre Entwicklungsfähigkeit zu verlieren, 24 bis 48 Stunden in Meerwasser conserviren lassen, so kann der Experimentator ein und dasselbe Ei-Quantum zu wiederholten Malen und zu verschiedenen Zeiten mit fremdem Samen kreuzen. Da ferner das Eindringen der Sper-

matozoen durch keine Hüllbildung oder andere Verhältnisse erschwert wird, so kommt hier bei Zusatz einer genügenden Samenmenge jedesmal ein jedes Ei ohne Ausnahme mit mehreren Spermatozoen in Berührung, wie man denn auch immer deren viele der Eioberfläche bei mikroskopischer Untersuchung anhaften sieht.

Wir haben nun gefunden, dass Eier, welche gleich nach ihrer Entleerung aus dem strotzend gefüllten Eierstock bastardirt wurden, das fremde Spermatozoon zurückwiesen, es aber nach 10, 20 oder 30 Stunden bei der zweiten oder dritten oder vierten Nachbefruchtung in sich aufnahmen und dann sich normal weiter entwickelten. Das Resultat fiel immer in derselben Weise aus, mochten wir die Eier von Strongylocentrotus lividus mit Samen von Sphaerechinus granularis oder von Echinus mikrotuberculatus, oder mochten wir die Eier von Sphaerechinus granularis mit Samen von Strongylocentrotus lividus und so weiter kreuzen.

Das Gelingen oder Nichtgelingen der Bastardirung kann in unseren Fällen nicht auf eine Verschiedenheit des Samens zurückgeführt werden, da derselbe jedesmal neu aus dem strotzend gefüllten Hoden entnommen wurde und daher bei den Versuchen als ein relativ constant bleibender Factor angesehen werden konnte. Hier ist es über jeden Zweifel erhaben, dass sich allein die Eizelle in ihrem Verhalten gegen die Einwirkung des fremden Samens verändert hatte.

Wenn aber überhaupt in der Eizelle Veränderungen eintreten oder künstlich hervorgerufen werden können, in Folge deren die Bastardirung gelingt, dann muss es vom theoretischen Standpunkte aus auch möglich sein, die Geschlechtsprodukte zweier Arten, zwischen denen ein gewisser Grad sexueller Affinität besteht, auch ohne Zurückbleiben eines unbefruchteten Restes zu bastardiren. Man wird dann je nach den Bedingungen, unter denen man die Geschlechtsprodukte zusammenbringt, ein Minimum und ein Optimum der Bastardirungsfähigkeit unterscheiden können.

Auch hierüber haben unsere Experimente Licht verbreitet, indem wir das Eimaterial eines Weibchens in mehrere Portionen theilten und zu ungleichen Zeiten befruchteten. Stets erhielten wir hier den geringsten Procentsatz Bastarde, wenn den Eiern gleich nach Entleerung aus den Ovarien der fremde Samen zugesetzt wurde. Hierbei haben wir keine Unterschiede constatiren können, ob die Eier aus einem strotzend gefüllten Eierstock stammten, oder ob es die ersten Eier einer neu beginnenden Fort-

pflanzungsperiode waren oder ob sie den zurückgebliebenen Rest eines vor einiger Zeit entleerten Eimaterials darstellten. — Je später die Befruchtung geschah, sei es nach 5 oder, 10 oder 20 oder 30 Stunden, um so mehr wuchs der Procentsatz der bastardirten Eier, bis schliesslich ein Bastardirungsoptimum erreicht wurde. Als solches bezeichnen wir das Stadium, in welchem sich fast das gesammte Eiquantum, mit Ausnahme einer geringen Zahl in normaler Weise entwickelt. Dasselbe ist, da sich in den Eiern innere Veränderungen ohne Unterbrechung weiter abspielen, von kurzer Dauer. Dann beginnt der Procentsatz der in Folge von Bastardbefruchtung sich normal entwickelnden Eier wieder abzunehmen und zwar hauptsächlich deshalb, weil ein immer grösser werdender Theil in Folge des Eindringens mehrerer Spermatozoen sich ganz unregelmässig theilt und missgebildet wird.

Die Erfolge, die man erhält, wenn das Eimaterial zu verschiedenen Zeiten gekreuzt wird, kann man sich unter dem Bild einer auf- und absteigenden Curve darstellen, deren Höhepunkt das Bastardirungsoptimum bezeichnet. Zur Veranschaulichung diene folgende Versuchsreihe einer Kreuzung der Eier von Sphaerechinus granularis mit Samen von Strongylocentrotus lividus.

1) Befruchtung nach $\frac{1}{4}$ Stunde:
Aeusserst vereinzelte Eier entwickeln sich. Bastardirungsminimum.

2) Befruchtung nach $2\frac{1}{4}$ Stunde:
Etwa 10 % entwickeln sich normal.

3) Befruchtung nach $6\frac{1}{4}$ Stunde:
Etwa 60 % entwickeln sich normal.

4) Befruchtung nach $10\frac{1}{4}$ Stunde:
Alle Eier entwickeln sich mit Ausnahme von 5 %. Bastardirungsoptimum.

5) Befruchtung nach 25 Stunden:
Ein Theil entwickelt sich normal, ein zweiter in unregelmässiger Weise, ein kleiner Rest bleibt unbefruchtet.

Man sieht, das Resultat ist ein entgegengesetztes, als es Pflüger für die Amphibien darstellt. Bei den Echinodermen lassen sich die Eier, nicht wenn sie am lebenskräftigsten sind, sondern bei abnehmender Lebensenergie durch Sperma einer anderen Art befruchten. Den Zeitpunkt grösster Lebensenergie verlegen wir bei normalen Verhältnissen in das Stadium der Eientleerung und nehmen an,

dass von da ab die Lebensenergie eine allmähliche Abnahme erfährt. Wir können hierfür ganz bestimmte Beweise beibringen.

Am lebenskräftigsten sind doch unzweifelhaft die Eier, bei welchen sich die Dotterhaut unter dem Einfluss der Befruchtung rasch abhebt und nur ein Spermatozoon eindringt. Nun kann man regelmässig sehen, wie proportional der Zeitdauer, welche die Eier nach der Entleerung im Wasser verweilen, sich die Membran langsamer abhebt, wie sie später zwar abgehoben, aber nur durch einen minimalen Spalt von der Eioberfläche getrennt wird. Noch später unterbleibt die Abhebung der Eimembran, es tritt Polyspermie ein, die Entwicklung wird pathologisch, endlich erhalten wir völlige Entwicklungsunfähigkeit, die mit Zerfall der Eier abschliesst. Wir haben so eine Reihe von äusserst prägnanten Zeichen abnehmender Lebensenergie.

Je geringer nun die Affinität der Sexualprodukte ist, um so weiter rückt das Bastardirungsoptimum in die Stadien abnehmender Lebensenergie der Eizellen hinaus. Zum Beispiel lassen sich die Eier von Echinus mikrotuberculatus sämmtlich noch mit abgehobener Eimembran bei Zusatz des Samens von Strongylocentrotus lividus befruchten; wenn wir aber Eier von Sphaerechinus granularis und Samen von Strongylocentrotus lividus anwenden, so rückt das entsprechende Optimum der Bastardirung in die Zeit hinaus, wo die Eimembran nur unvollkommen abgehoben wird. Eine weitere Verschiebung des Optimum liess sich bei den übrigen Kreuzungen erkennen.

Wir sind nun der Ansicht, dass bei den Amphibien die gleichen Verhältnisse vorliegen. Wenn daher Pflüger den günstigsten Moment der Bastardirung in die Zeit der höchsten Geschlechtsreife der Eier verlegt, so glauben wir, dass dieser Moment bei seinen Versuchen schon vorüber war und dass das Eimaterial schon gelitten hatte. Diese Annahme hat durchaus nichts Unwahrscheinliches, wenn wir, worauf schon oben aufmerksam gemacht wurde, in Erwägung ziehen, dass die Eier beim Transport der Thiere leiden, dass bei der Trennung der Pärchen das Fortpflanzungsgeschäft gestört wird und dass es nicht möglich ist, das Alter der Eier zu bestimmen. Auch findet diese Annahme noch in einigen Angaben von Pflüger und Born über die weitere Entwicklung eine neue Stütze. Beide Forscher haben nämlich fast in allen Fällen, in denen Bastardbefruchtung erzielt werden konnte, auch beobachtet, dass neben den normal sich entwickelnden Bastardeiern stets eine kleinere oder grössere Zahl missgebildeter und

barockgefurchter Eier vorhanden waren. Die Barockfurchung ist durch Eindringen zahlreicher Spermatozoen veranlasst worden. Letzteres aber ist wiederum ein Zeichen, dass die Eier nicht mehr ganz frisch waren. Wir verallgemeinern hier unsere bei Echinodermen gewonnenen Erfahrungen, wozu wir um so mehr Veranlassung haben, als sowohl Pflüger wie Born für die Amphibien festgestellt haben, dass wenn die Eier derselben aus irgend welchen Gründen gelitten haben, sie sich auch bei Zusatz des Samens der eigenen Art abnorm furchen. So kann man z. B. abnorme Furchung auf künstlichem Wege hervorrufen, wenn man das getödtete Weibchen von Rana fusca mit geöffnetem Bauch mehrere Tage liegen lässt, ehe man die Befruchtung vornimmt.

Unsere Meinung geht daher schliesslich dahin: Man wird bei den Amphibien gerade so wie bei den Echinodermen am leichtesten Bastarde züchten, wenn man geschwächte Eier mit recht lebenskräftigem Samen einer anderen Art vermischt. Das Bastardirungsminimum wird dann mit dem Anfang der Brunst, wo die Geschlechtsproducte am lebenskräftigsten sind, zusammenfallen.

Ob diese Vermuthung richtig ist, wird durch eine erneute Untersuchung leicht festzustellen sein.

Im Hinblick auf die von uns bewiesene Thatsache, dass die Eier in Bezug auf ihre Bastardirungsfähigkeit inconstante Factoren sind, wird jetzt auch der verschiedene Ausfall solcher Bastardirungsversuche, in denen man mit scheinbar frischem Material operirt, verständlich werden. Denn wenn man auch die zur Kreuzung benutzten Eier nicht künstlich geschädigt hat, so können dieselben doch schon durch mancherlei andere schwer zu beurtheilende Factoren in ihrer Lebenenergie gelitten haben, wie durch das Alter der Versuchsthiere, durch den mangelhaften Gesundheitszustand derselben etc. etc. Hieraus erklärt es sich, warum unsere Experimente oft etwas verschieden ausfielen, je nachdem wir die Eier von ganz frisch eingefangenen Thieren, sei es von Strongylocentrotus lividus oder von Sphaerechinus granularis, oder die Eier von solchen Thieren, die schon ein, zwei oder drei Tage in Gefangenschaft gehalten worden waren, sofort mit fremdem Samen befruchteten. Im ersteren Falle erzielten wir eine geringere, im letzteren eine grössere Anzahl von Bastarden, da die Schwächung des Eimaterials schon während des Lebens des Thieres im Ovarium erfolgt war.

Aus unserem Princip scheint sich auch eine Erklärung der bekannten Thatsache zu bieten, dass domesticirte Thier- und Pflan-

zenarten sich im Allgemeinen leichter kreuzen lassen, als nahe verwandte Arten im Naturzustande. Durch die Domestication wird eben im Ganzen die Constitution geschwächt, was sich dann besonders an den Geschlechtsproducten geltend macht, da, wie bekannt, der Generationsapparat bei allen Veränderungen im Körper in Mitleidenschaft gezogen wird.

Bisher haben wir immer mit dem männlichen Samen als mit einem constanten Factor rechnen können, da wir jedesmal möglichst frischen Samen zur Kreuzbefruchtung verwandt haben. Sollte nun aber der Erfolg der Bastardirung nicht auch durch eine verschiedene Beschaffenheit der Samenflüssigkeit beeinflusst werden können?

Bei den Echinodermen haben wir dieser Frage, auf welche wir uns vorbehalten später noch einmal zurückzukommen, aus Mangel an Zeit unsere Aufmerksamkeit nicht zuwenden können. Soweit wir aber bemerkt haben, scheint die Beschaffenheit des Sperma für den Ausfall der Experimente von geringer Bedeutung zu sein. Möglicher Weise liegen bei den Amphibien die Verhältnisse etwas anders, indem durch den Entwickelungszustand der Spermatozoen eine weitere Complication in das Experiment eingeführt wird.

Born giebt an, dass zum Gelingen der Kreuzung recht lebenskräftiger Samen zur Zeit der Hochbrunst erforderlich ist. Mehrfach wird hervorgehoben, dass bei den Versuchsthieren die bastardirende Kraft des Samens vollständig erschöpft gewesen sei. So liessen sich in einem Falle die Eier von Rana arvalis mit Samen der einheimischen Rana fusca nicht mehr bastardiren, während es noch zwei Tage darauf mit frischen Ranae fuscae, welche aus Glarus gesandt worden waren, gelang. Desgleichen versagten in anderen Versuchen ebenfalls zuerst die Männchen der einheimischen Ranae fuscae. Am 26. April gelang mit ihnen keine einzige Bastardirung mehr, doch war ihr Same noch wirksam für die Eier der eigenen Art.

Pflüger ist freilich anderer Anschauung als Born. Nach seinen Beobachtungen ermöglicht der Same der Amphibien viele Wochen vor und nach der Hochbrunst noch immer Bastardbefruchtung, und ist das Gesetz, nach welchem die Bastardbefruchtung allein auf dem Stadium der Hochbrunst gelingt, nur für das Ei scharf ausgesprochen und gültig.

Auch für die Amphibien kann mithin die Frage nach dem

Verhalten der Spermatozoen bei der Bastardbefruchtung noch nicht als abgeschlossen betrachtet werden.

Ein zweiter Differenzpunkt zwischen unseren Vorgängern und uns ergiebt sich, wenn wir nach den Ursachen forschen, durch welche Bastardbefruchtung verhindert wird.

Pflüger stellt die Hypothese auf, dass alle zur Zeit der Hochbrunst rein negativ ausfallenden Kreuzungen zwischen den verschiedenen Arten der Anuren nur durch secundäre, d. h. unwesentliche äussere Umstände zu erklären seien. Das wahre Gesetz sei wahrscheinlich: reciproke Fruchtbarkeit bei allen Arten, normale Furchung der Eier und Absterben während der ersten Entwickelung. Eine sehr wesentliche aber grob mechanische, secundäre Ursache, durch welche in den meisten Fällen das Gelingen der Bastardbefruchtung verhindert werde, glaubt Pflüger in der Form der Spermatozoenköpfe gefunden zu haben. Durch einen Vergleich der von ihm erhaltenen Kreuzungsresultate und der Form der Spermatozoen bei den verschiedenen Anurenarten wird er zur Aufstellung zweier Sätze veranlasst: 1) dass im Allgemeinen diejenigen Spermatozoen am geeignetsten sind zur Vermittelung der Bastardzeugung, deren Kopf am dünnsten und deren vorderes Ende am spitzesten ist; 2) dass im Allgemeinen die Eier der Bastardbefruchtung am zugänglichsten sind, wenn die zugehörigen Spermatozoen derselben Art dickere Köpfe haben. Er setzt deshalb die Anwesenheit einer Mikropyle voraus, die gerade so weit ist, dass das Spermatozoon der eigenen Art passiren kann.

Als Beleg für diese Hypothese werden hauptsächlich die Samenfäden von Rana fusca aufgeführt, welche unter allen Arten den dünnsten und sehr spitz auslaufenden Kopf haben. Sie befruchten fast alle Eier, auf die sie einwirken: die Eier von Rana arvalis, Rana esculenta, Bufo communis, während umgekehrt die dickköpfigen Spermatozoen von Rana arvalis und R. esculenta mit stumpfem Kopfende in das Ei der Rana fusca nicht einzudringen vermögen und überhaupt kein fremdes Ei befruchten können. Die auffallendste Bestätigung seiner Hypothese aber findet Pflüger darin, dass gerade die beiden Anurenarten, welche Spermatozoen mit gleichgeformten und gleich grossen Köpfen besitzen, R. arvalis und R. esculenta, vollkommen reciproke Bastardbefruchtung zeigen.

Auch Born legt für das Gelingen der Bastardirung ein grosses Gewicht auf die Form der Samenfäden und nimmt eine verschiedene Fähigkeit derselben in Bezug auf das Durchdringen verschie-

den gebauter Gallerthüllen an. Er erklärt hieraus die von ihm beobachtete Erscheinung, dass je nach der Concentration der benutzten Samenflüssigkeit die Resultate etwas verschieden ausfallen, weil bei steigender Concentration die Wahrscheinlichkeit wächst, dass von vielen 1000 Samenfäden wenigstens einer durch die Gallerthüllen glücklich in das Ei gelangt. Ausserdem lässt er es noch von unbekannten individuellen Verschiedenheiten der Spermatozoen abhängen, ob bei der Bastardirung der Verlauf des Befruchtungsvorganges zum normalen Ziele führt oder nicht und ob dementsprechend reguläre oder irreguläre Furchung auftritt.

Nach unseren an den Echinodermen gesammelten Erfahrungen müssen wir einen abweichenden Standpunkt einnehmen.

Bei den Echinodermen wird die Befruchtung nicht durch Hüllbildungen, wie bei den Amphibien, oder dadurch, dass die Spermatozoen im Wasser rasch absterben, erschwert. Eine Mikropyle fehlt. Für den besseren oder geringeren Erfolg der Bastardirung kann die äussere Form der Spermatozoen nicht verantwortlich gemacht werden. Denn selbst bei den stärksten Vergrösserungen ist es uns nicht möglich gewesen zwischen den reifen Samenfäden eines Sphaerechinus oder Strongylocentrotus oder einer Arbacia Unterschiede in Form und Grösse zu entdecken. Aber auch selbst dann, wenn hier Verschiedenheiten beständen, würde bei den Echiniden nicht einzusehen sein, warum ein Spermatozoon von bestimmter Beschaffenheit in die Eier der einen Art leichter als in die Eier einer anderen Art hineindringen sollte, da sie sich in ihren Hüllen nicht unterscheiden und eine Mikropyle fehlt. Auch die Quantität des hinzugefügten Sperma ist ohne Einfluss, wie wir durch eine Versuchsreihe nachgewiesen haben. Es kommen also alle jene äusseren Momente in Wegfall, welche nach Born und Pflüger das Resultat der Kreuzung bei den Amphibien bestimmen sollen.

Wenn wir trotzdem bei den Echiniden gesehen haben, dass bei ihnen gerade so wie bei den Amphibien die Kreuzung zwischen manchen Arten besser, zwischen anderen wieder weniger gut gelingt, dass hier die Befruchtung eine reciproke, dort eine einseitige ist, dass die Eier ein und derselben Art ihre Empfängnissfähigkeit gegen den Samen einer anderen Art verändern, so müssen die Ursachen in einer ganz anderen Richtung gesucht werden.

Es kann nur die Constitution oder die innere Organisation der Geschlechtsprodukte selbst sein,

welche das Gelingen der Kreuzbefruchtung bestimmt. Volle Fruchtbarkeit, oder wie wir, an chemische Bezeichnungen anknüpfend, auch sagen können, volle geschlechtliche Affinität findet nur statt zwischen den Geschlechtsprodukten ein und derselben Art. Sie erlischt allmählich in demselben Maasse, als die Geschlechtsprodukte einander fremdartiger werden.

Die für die Befruchtung maassgebenden Faktoren suchen wir in den activen Zellbestandtheilen, Kern und Protoplasma, den Theilen, welche wir auch sonst Form und Wesen der Organisation bei allen Entwicklungsprocessen und histologischen Differenzirungen bestimmen sehen. Auf sie passen die Erfahrungen, welche wir mit Rücksicht auf die Veränderungen in der Bastardirungsfähigkeit gemacht haben. Durch langes Liegen im Wasser oder durch Einwirken von Schädlichkeiten wird der eigentliche Zellkörper des Eies verändert, wie wir auch durch andere Erfahrungen, so namentlich durch die Erfahrungen über die Zelltheilung, wissen.

Die Veränderlichkeit in den Lebenseigenschaften kommt nun für die beiderlei Sexualprodukte bei der Bastardirung in ganz entgegengesetztem Sinne zur Geltung. Bastardirung gelingt um so leichter, je lebensfähiger die Spermatozoen sind und je mehr die Eier eine Schwächung erfahren haben. Die Schwächung wiederum muss um so bedeutender sein, je weniger günstig die Bedingungen für die Bastardirung im Allgemeinen sind. Der Widerstand gegen Bastardbefruchtung geht offenbar vom Ei aus, das lehren unsere Untersuchungen auf das Unzweideutigste. Bei den Spermatozoen ist dagegen die Tendenz zur Befruchtung stets vorhanden, sie ist möglicherweise geringer bei Eiern einer fremden Art, als bei Eiern derselben Art; man kann dies, wenn auch nicht aus unseren eigenen Erfahrungen, so doch vielleicht aus den von Born angestellten Experimenten entnehmen.

Zum Schluss weisen wir noch auf eine Analogie hin, welche zwischen der Bastardbefruchtung und der Polyspermie besteht.

Einer von uns hat früher den Satz aufgestellt, dass das Eindringen vieler Spermatozoen durch Lebenseigenschaften der Eizelle verhindert wird. Eine Reihe von Untersuchungen, welche wir in einem nächsten Heft mittheilen

werden, haben für diese Ansicht weitere Beweise beigebracht. Wir können jetzt den Satz erweitern und sagen, dass in der Eizelle regulatorische Kräfte vorhanden sind, welche den normalen Verlauf der Befruchtung garantiren und Polyspermie und Bastardbefruchtung zu verhindern streben. Diese regulatorischen Kräfte können mehr oder minder ausser Thätigkeit gesetzt werden, wenn die Lebensenergie der Eizelle eine Verminderung erfährt. Welcher Art diese Kräfte sind, und ob sie im Protoplasma oder dem Kern ihren Sitz haben, muss noch durch weitere Untersuchungen entschieden werden.



Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Untersuchungen

zur

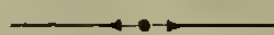
Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig,
o. Professor der Anatomie an der Universität
Jena.

und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität
München.



Heft 4.

Experimentelle Untersuchungen

über

die Bedingungen

der

Bastardbefruchtung.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1885.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Über den

Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies

unter dem Einfluſs äuſserer Agentien.

Von

Dr. Oscar Hertwig,
o. ö. Professor der Anatomie an der Universität Jena,

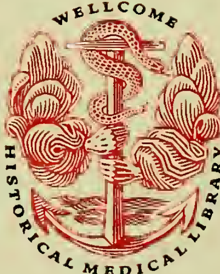
und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität München.

Mit 7 lithographischen Tafeln.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1887.


WELLCOME
HISTORICAL MEDICAL LIBRARY


22900369395

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig, und **Dr. Richard Hertwig,**

o. Professor der Anatomie an der Universität Jena, o. Professor der Zoologie an der Universität München.



Heft 5.

Über den

Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies

unter dem Einfluſs äuſserer Agentien.

Mit 7 lithographischen Tafeln.



Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1887.

Über den

Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies

unter dem Einflufs äufserer Agentien.

Von

Dr. Oscar Hertwig,
o. ö. Professor der Anatomie an der Universität Jena,

und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität München.

Mit 7 lithographischen Tafeln.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1887.

Bei unseren seit einer Reihe von Jahren begonnenen Untersuchungen über die Befruchtungs- und Teilungsvorgänge tierischer Eier hatten wir oftmals Gelegenheit, zu beobachten, in wie hohem Grade diese Vorgänge durch äußere Einflüsse beherrscht werden. Bereits im Jahre 1875 wurde bei der Darstellung des Befruchtungsprozesses bemerkt, daß anstatt eines einzigen Samenfadens zuweilen zwei, drei und mehr in wahrscheinlich pathologisch veränderte Eier anormaler Weise eindringen. Fol konstatierte darauf diese Thatsache ebenfalls und knüpfte an sie die Hypothese an, daß durch Eindringen von zwei, drei und mehreren Samenfäden Zwei-, Drei- und Vielfachbildungen erzeugt werden. Zu wiederholten Malen sind wir auf diesen Gegenstand zurückgekommen, eingehender jedoch im letzten Heft dieser Untersuchungen, wo es uns gelang, den experimentellen Beweis zu liefern, daß die Bastardbefruchtung besser gelingt, wenn sich das Eimaterial in einem etwas geschwächten Zustand befindet. Hierbei wurde die Schwächung der zu bastardierenden Eier durch längeres Verweilen derselben in Meerwasser vor Ausführung der Befruchtung hervorgerufen.

Infolge dieser mehrfachen Anregungen befestigte sich in uns der Plan, die Einwirkung äußerer Agentien auf den Befruchtungs- und Teilungsvorgang der Seeigeleier einer methodischen Untersuchung zu unterwerfen. Schon während unseres Aufenthaltes in Sorrent in den Osterferien 1884 gingen wir an die Ausführung des Planes, indem wir in den letzten Tagen vor unserer Abreise den Verlauf der Befruchtung unter der Einwirkung des Chloroforms verfolgten und hierbei schon eine Reihe interessanter Störungen ermittelten. Da eine erschöpfendere Behandlung der Frage damals von uns wegen der Kürze der Zeit nicht vorgenommen wer-

den konnte, betrachteten wir die Experimente mit Chloroform nur als vorläufige Ermittelungen und nahmen uns eine methodische und eingehendere Prüfung des vorliegenden Untersuchungsgebietes für die Zukunft vor.

Hierzu bot ein sechswöchentlicher Aufenthalt an der Riviera di Ponente in den Osterferien 1885 die passende Gelegenheit. Als Station benutzten wir das in der Nähe von Genua gelegene Nervi, dessen klippenreiche Küste uns ein geeigneter Aufenthalt für Echinodermen zu sein schien. Leider sahen wir uns in dieser Beziehung zum Teil getäuscht. Zwar kam der am Mittelmeer so gemeine Strongylocentrotus lividus in großen Mengen vor und konnte täglich leicht beschafft werden; dagegen war es nicht möglich, noch anderer Seeigelarten, welche wir in Spezia und Sorrent erhalten hatten, habhaft zu werden. Zum Teil hatte dies wohl darin seinen Grund, daß es in Nervi an einer Fischerbevölkerung fehlt, vielleicht auch darin, daß der Golf von Genua, wie man annimmt, weniger reich an Tieren ist. Uns war dieser Mangel anderer Seeigelarten um so unangenehmer, als wir auch Experimente in Bezug auf die Bastardierung geplant hatten, einen Wechsel des Ortes aber wegen äußerer uns behindernder Verhältnisse nicht vornehmen konnten, wie es sonst wohl geschehen wäre.

So konnten wir nur einen Teil unseres Planes zur Ausführung bringen, indem wir die Eier von Strongylocentrotus lividus vor, während und nach der Befruchtung erstens der Einwirkung verschiedener chemischer Agentien, zweitens der Einwirkung erhöhter Temperatur, drittens mechanischen Insulten unterwarfen. Im Anschluß daran wurde auch die Frage geprüft, inwieweit sich das Sperma durch äußere Agentien beeinflussen läßt und ob hierdurch der Befruchtungsprozeß abgeändert wird.

Vor unserer Abreise hatten wir uns zur Vornahme etwaiger Experimente mit einer kleinen Sammlung von Giften versehen, welche wir zum Teil der Freundlichkeit der Herren Kollegen Preyer und Krukenberg verdankten. Dieselbe bestand aus Chloroform, Chloralhydrat, Morphium hydrochloricum, Cocain, Strychnium nitricum, Chinium sulfuricum, Nicotin, Blausäure in Wasser gelöst, ferner aus Helleborin, Veratrin, Coniin, Piperin, Curarin. Aus Mangel an Zeit mußten wir uns auf die acht zuerst angeführten Stoffe beschränken, wie wir auch aus demselben Grunde den Einfluß von verschiedenen Gasarten, von Sauerstoff, Kohlensäure, Wasserstoff, Schwefelwasserstoff nicht prüfen konnten, obwohl

wir uns vor unserer Abreise auch für derartige Untersuchungen vorbereitet hatten.

Die freie Zeit am Meere benutzten wir hauptsächlich zur Untersuchung der Vorgänge am lebenden Objekte; um aber später noch Gelegenheit zu haben, in die feineren Veränderungen am Kern, die ein zeitraubendes Studium verlangten, eindringen zu können, konservierten wir verschiedene Serien von Eiern; wir töteten sie in Pikrinessigsäure ab und hoben sie nach sorgfältiger Auswaschung der Säure in 75 % Alkohol in kleinen Reagensröhrchen auf. Während des Sommers wurde das Material allmählich verarbeitet. Es wurde teils mit Lithionkarmin, teils nach der Grenacher'schen Methode mit Boraxkarmin in der Weise gefärbt, daß die Eier erst 24 Stunden in den Farbstoff eingelegt und dann in 75% Alkohol, dem ½—1 Prozent Salzsäure zugesetzt war, ausgezogen wurden; dann wurde es in Damaralack eingeschlossen. Um gute Präparate zu erhalten, muß man beachten, daß die Übertragung der Eier aus einem Medium in das andere allmählich erfolgt und daher am besten in Uhrschälchen vorgenommen wird. Aus absolutem Alkohol bringt man die Objekte am besten in eine Mischung von Nelkenöl und Alkohol zu gleichen Teilen und läßt den Alkohol verdunsten. Da bei feuchtem Wetter der absolute Alkohol leicht Wasser anzieht und dabei das Nelkenöl milchig getrübt wird, ist es zweckmäßig, die Uhrschälchen mit Präparaten unter eine Glasglocke zu setzen und ein Gefäß mit konzentrierter Schwefelsäure hinzuzufügen. Der zum Einschluß verwandte Damaralack muß sehr verdünnt sein. Wenn der Einschluß in Glycerin gewählt wird, ist ebenso in schonender Weise zu verfahren. Die Kernfiguren treten dann viel deutlicher hervor, als wenn die Verdrängung der einen Zusatzflüssigkeit durch die andere plötzlich erfolgt.

Vielfach ist es zweckmäßig, die Präparate in Nelkenöl zu untersuchen, da dieses noch wirksamer als Damaralack aufhellt. Man gewinnt hierbei noch einen weiteren Vorteil. Nelkenöl macht das Protoplasma bei längerer Einwirkung brüchig und spröde. Beim Zerklopfen zersplittert die Masse des Eies in kleine Stücke, und kann man bei vorsichtigem Verfahren die Kerne und Spindeln mehr oder minder vollständig isolieren. Für die Untersuchung feiner Strukturverhältnisse ist das Verfahren von Bedeutung.

Die erzielten Resultate besprechen wir in drei Kapiteln nach der Art der Agentien, durch welche die Geschlechtsprodukte beeinflußt worden sind. Das erste handelt über den Einfluß chemi-

scher Stoffe, das zweite über den Einfluß der Wärme und das dritte über den Einfluß mechanischer Erschütterung.

Erstes Kapitel.

Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch chemische Agentien.

Mit acht verschiedenen Stoffen wurden Versuche vorgenommen: mit Chloroform, Chloralhydrat, Morphium hydrochloricum, Cocain, Nikotin, Strychnium nitricum, mit Blausäure und Chinium sulfuricum. Wir ließen dieselben erstens auf die Geschlechtsprodukte vor der Vornahme der Befruchtung einwirken und zwar entweder allein auf die Eier oder allein auf das Sperma. Zweitens unterwarfen wir die Eier kurz nach dem Zusatz des Sperma's, bevor noch die inneren Befruchtungsvorgänge abgelaufen waren, dem Einfluß von chemischen Stoffen; drittens suchten wir den Verlauf des Teilungsprozesses durch einige der angeführten Mittel zu beeinflussen. Demnach gliedert sich das erste Kapitel in drei Abschnitte, von denen der erste in zwei weitere Abteilungen zerfällt.

I. Abschnitt.

Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch chemische Agentien vor der Befruchtung.

a. Der Eier.

1. Beeinflussung der Eier durch Nikotin.

Von einer konzentrierten Nikotinlösung (Nikotinextrakt) wurden verschiedene Mischungen bereitet, indem je ein Tropfen entweder zu 100 oder 200, 300, 400, 600, 1000 Gramm Meerwasser hinzugefügt wurde. Die unbefruchteten Eier wurden in Uhrschälchen mit diesen Lösungen übertragen und nach 5 oder 10 oder 15 oder mehr Minuten herausgenommen, in frisches und reines Meerwasser gebracht und befruchtet. Mit diesen Mischungen wurde eine größere Anzahl von Experimenten vorgenommen, deren Ergebnisse wir aus dem geführten Tagebuch mitteilen.

1. Versuch. Sonntag den 5. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 100 Wasser.

a. Die Eier verweilten in der Nikotinlösung von 10 Uhr 25 M. bis 10 Uhr 30 M.

Bei Zusatz des Samens hob sich sofort überall die Eihaut ab. Alsbald bildeten sich an jedem Ei mehrere Befruchtungshügel aus hyalinem Protoplasma, zuerst breit, später sich verschmälernd und in eine feine Spitze auslaufend. Nach 10 Minuten waren zahlreiche deutlich ausgeprägte Spermastrahlungen in jedem Ei entstanden. Um 1½ Uhr zeigten die Eier an ihrer Oberfläche mehrere unregelmäßige Furchen und Gruben und zerfielen durch fortschreitende Vertiefung derselben in viele kleinere und größere, oft noch zusammenhängende Teilstücke. In den größeren liegen häufig mehrere Strahlungen, die in dem auch sonst normal aussehenden Protoplasma deutlich ausgeprägt sind.

Born hat in seiner Arbeit über Amphibien diesen Modus der Eizerklüftung als Barockfurchung bezeichnet; wir werden uns im Folgenden hierfür des Namens Knospenfurchung bedienen. Normalgefurchte Eier konnten bei diesem Experiment nicht aufgefunden werden.

b. Von 3 Partien Eier verweilte ein Teil in der Nikotinlösung von 10 Uhr 25 M. bis 10 Uhr 35 M., ein anderer bis 10 Uhr 40 M., ein dritter bis 10 Uhr 45 M.

Das Resultat ist in den 3 Proben ein ähnliches. Die Eihaut war überall scharf abgehoben. Es wurden an jedem Ei viele Befruchtungskegel und bald darauf viele Spermastrahlungen gesehen. Um 2 Uhr erfolgte unregelmäßige Knospenfurchung. Die in Ruhezustand befindlichen Kerne fielen durch ihre besondere Größe auf. Am Montag sind Blastulae entstanden, die sich teils im Wasser flimmernd fortbewegen, teils matt flimmernd am Boden des Uhrschälchens liegen bleiben. Sie sind insofern abnorm gestaltet, als an Stelle des Gallertkerns sich eine trübe, mit glänzenden Körnchen erfüllte Masse gebildet hat. Die Larven gewinnen hierdurch eine kompaktere Beschaffenheit, daher wir uns zur Bezeichnung derselben des Namens Stereoblastulae bedienen wollen. Einige Eier des Versuchsmaterials sind zerfallen.

c. Die Eier verweilten in der Nikotinlösung von 10 Uhr 25 M. bis 11 Uhr. Jetzt hob sich die Eihaut nur sehr schwach ab. Viele Befruchtungskegel wurden gebildet, zahlreiche und ziemlich deutliche Strahlungen entstanden. Um 2 Uhr waren die

Eier meist noch kugelig und zeigten teils viele Strahlungen teils viele bläschenförmige Kerne. Einige Eier zeigten Knospenfurchung. Am Montag war das Versuchsmaterial abgestorben und zerfallen.

d. Die Eier verweilten in der Nikotinlösung von 10 Uhr 25 M. bis 11 Uhr 15 M.

Die Eihaut war zwar vom Dotter nicht abgehoben, war aber als deutlich doppelt kontouriertes Gebilde vorhanden. Sehr viele Spermatozoen dringen ein. An ihrer Eintrittsstelle erheben sich ganz kleine Befruchtungshügel. Um 2 Uhr ist die ganze Eioberfläche dicht bedeckt mit Spermastrahlungen, in welchen bläschenförmige Kerne zu sehen sind. Am Montag ist das Versuchsmaterial gleichfalls abgestorben und zerfallen.

2. Versuch. Montag den 6. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 100 Wasser. Die Eier verweilen von 10 Uhr 15 M. bis 10 Uhr 20 M. in der Nikotinlösung. Bei Zusatz sehr verdünnter Samenflüssigkeit hebt sich überall die Eihaut ab. Viele Samenfäden dringen ein und umgeben sich mit Strahlung. Um 1½ Uhr beginnt die Knospenfurchung, wobei 8 bis 16 Teilstücke entstehen. Am Dienstag den 7. April finden sich teils frei im Wasser herumschwimmende, teils auf dem Boden des Uhrschälchens liegende Stereoblastulae.

Am folgenden Tag hat sich die Mehrzahl nur wenig verändert, einige haben reichlichere Gallerte entwickelt, einige sind zu Gastrulae geworden. Am 9. April sind unter den Larven einzelne Plutei zu sehen. Der größte Teil aber verharrt noch auf dem Stadium der abnormen Blastula- und Gastrulabildung.

3. Versuch. Dienstag den 7. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 100 Wasser. Die Eier verweilen von 2 Uhr 30 M. bis 2 Uhr 40 M. in der Nikotinlösung. Bei Zusatz von stark verdünnter Samenflüssigkeit hebt sich die Eihaut sofort ab. Viele, erst breite, später sich zuspitzende Befruchtungshügel entstehen. Nach einer Viertelstunde erkennt man den Grad der Polyspermie an den stark ausgeprägten Spermastrahlungen. Um 4 Uhr 45 M. beginnt die Knospenfurchung, durch welche das Ei in 8 bis 20 ziemlich gleichzeitig entstehende Teilstücke zerfällt.

Am 8. April sind Stereoblastulae entwickelt, die teils noch in die Eihaut eingeschlossen sind, theils frei herumflimmern. An der Oberfläche von manchen derselben hängen abgelöste kleine gekörnte Zellen.

Am Freitag den 10. April hat sich im Innern der Blastulae mehr Gallerte entwickelt; hier und da sind auch Kalknadeln und eine Gastrula-Einstülpung entstanden.

Am 12. April lebt noch der größte Teil der abnormen Larven und wird zu weiterer Untersuchung abgetötet und konserviert.

4. Versuch. Montag den 6. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 200 Wasser. Die Eier verweilen von 10 Uhr 35 bis 10 Uhr 40 M. in der Nikotinlösung.

Ein Teil des Materials wird normal befruchtet. Der andere Teil zeigt einen geringen Grad von Polyspermie. In zahlreichen Fällen kommt es zur Entwicklung eines einfachen Tetrasters. Um 12 Uhr sieht man außer normalen Zweiteilungen viele Vierteilungen, einige Sechsteilungen und Eier in Knospenfurchung. Am 7. April sind aus dem Versuchsmaterial teils normale Blastulae, teils wenige Stereoblastulae hervorgegangen. Die ersteren sind an den nächsten Tagen zu Plutei geworden, während letztere noch auf dem Blastula- oder Gastrulastadium verharren, dabei aber unter reichlicher Ausscheidung von Gallerte an Größe zugenommen haben.

5. Versuch. Montag den 6. April. 1 Tropfen Nikotinextrakt auf 300 Wasser. Die Eier verweilen von 2 Uhr 40 M. bis 2 Uhr 50 M. zum Teil bis 2 Uhr 55 M. in der Nikotinlösung.

Es entstehen nach Abhebung der Eihaut mehrere Befruchtungskegel. Um 4 Uhr 50 M. sind 4 bis 8 Strahlungen in der Eirinde zu sehen. Um 5 Uhr 15 M. beginnen die Eier durch Knospenfurchung in 6 bis 10 ungleich große unregelmäßige Stücke zu zerfallen. Noch nach 5 Tagen sind die aus dieser Zucht hervorgegangenen Larven große in Wasser herumflimmernde Gallertkugeln (Blastulae), einige haben eine Gastrulaeinstülpung erhalten.

Da sich die Tagebuchnotizen nur auf die am lebenden Ei wahrgenommenen Vorgänge beziehen, es aber wichtig erschien, auch in die feineren Veränderungen am Eikern und an den eingedrungenen Samenfäden Einblick zu gewinnen, wurden noch 3 Serien von Eiern, die mit Nikotin vor der Befruchtung behandelt worden waren, in Pikrinessigsäure zu genauerer histologischer Untersuchung eingelegt. In der 1. Serie waren die Eier während 5 Minuten in eine Nikotinlösung (1 : 200) gebracht, in der 2. Serie waren sie in derselben Lösung 8 bis 14 Minuten belassen worden. In beiden Serien wurden die Eier in 5 Intervallen nach 20, 45, 75, 105, 130 Minuten nach vorgenommener Befruchtung abgetötet.

In der dritten Serie waren die Eier mit einer Nikotinlösung (1:400) behandelt und in 7 Intervallen nach 15, 35, 50, 70, 90, 105, 130 Minuten nach der Befruchtung konserviert worden.

Die am lebenden und konservierten Material erhaltenen Ergebnisse fassen wir in übersichtlicher Weise zusammen.

Eine Einwirkung des Nikotins auf die Zellsubstanz macht sich bei stärkeren Lösungen wie 1:100 schon nach 3 bis 5 Minuten, bei schwachen Lösungen (1 : 1000) erst nach 10 bis 15 Minuten geltend und äußert sich in einer Störung des Befruchtungsvorganges. Der Grad der Störung ist ein verschieden großer je nach der Stärke der Nikotinlösung und der Zeit ihrer Einwirkung, welche man ziemlich ausdehnen kann. Denn man kann Eier in der Nikotinlösung (1 : 100) eine Stunde liegen lassen, ohne daß sie abgetötet werden, wennschon ihre Lebenskraft erheblich verändert wird, wie sich im weiteren Verlaufe ihrer Entwickelung herausstellt.

Bei Anwendung des Nikotins wie eines jeden anderen Mittels darf übrigens keine gleichmäßige Einwirkung auf das Eimaterial, etwa wie bei einer chemischen Reaktion erwartet werden. Namentlich ist bei schwacher Einwirkung des Nikotins der Erfolg ein sehr ungleichmäßiger. Während bei einem Teil der Eier der Befruchtungsvorgang gestört ist, verläuft er bei dem anderen Teil in gewöhnlicher Weise. Es ist dies ein neuer Beweis für die Erscheinung, welche schon in dem vorausgehenden Heft dieser Untersuchungen bemerkt worden ist, daß die aus dem Ovarium frisch entleerten Eier durchaus kein gleichartiges Material darstellen, daß von Anfang an individuelle Verschiedenheiten existieren, daß einige Eier ein größeres, andere ein geringeres Widerstandsvermögen gegen schädigende Einflüsse besitzen.

Bei schwacher Nikotineinwirkung, welche man erreicht, wenn man Eier 5 Minuten in einer Lösung 1 : 200 bis 1 : 500 oder 10 Minuten in einer Lösung 1 : 1000 liegen läßt, scheint der Befruchtungsvorgang zuerst normal zu verlaufen und es bedarf genauer Prüfung der Eier, um zu erkennen, daß bei einem Teil anormale Erscheinungen hervorgerufen worden sind. An allen schwach nikotinisierten Eiern hebt sich sofort bei Zusatz des Samens die Dotterhaut in üblicher Weise ringsum vom Dotter weit ab. Bei einem Teil der Eier ist nur ein einziges Spermatozoon eingedrungen, bei einem mehr oder minder großen Prozentsatz dagegen, bei welchem die Dotterhaut gleichfalls weit absteht, haben sich gleichzeitig zwei, drei oder vier in das Ei eingebohrt. In

den ersten 5 Minuten nach erfolgtem Spermazusatz erkennt man bei sorgfältiger Durchmusterung der Eier die anomale Befruchtung an dem Auftreten von 2 oder mehreren Befruchtungshügeln. Dieselben können sich nahe bei einander oder an ganz entfernten Punkten der Eioberfläche bilden. Später, d. h. nach 10 bis 20 Minuten, wo die Befruchtungshügel wieder in die Dottersubstanz eingezogen worden sind, wird die Überfruchtung durch die Anzahl der um die eingedrungenen Spermatozoenköpfe erscheinenden Strahlungen angedeutet. Die Strahlenbildung erfolgt bei den schwach nikotinisierten Eiern genau in derselben Weise und in derselben Stärke wie bei frischem Eimaterial. Überhaupt ist, abgesehen von der bei einem Teil der Eier hervorgerufenen Überfruchtung, zunächst keine Störung der weiteren Entwicklung festzustellen. Bei Eindringen eines Spermatozoons tritt die Kopulation des Ei- und Spermakerns, die Umwandlung des Furchungskerns in die Spindel und die Eifurchung in normaler Weise und zur normalen Zeit ein. Bei den überfruchteten Eiern aber sind die abweichenden weiteren Entwicklungsvorgänge, die später auf Grund des mit Reagentien behandelten Materials ausführlicher dargestellt werden sollen, in erster Linie auf die größere Anzahl der eingedrungenen Samenfäden zurückzuführen.

Bei Einwirkung einer stärkeren Nikotinlösung (1 : 100. 5 Minuten) oder einer schwächeren während längerer Zeit (1 : 500. 1 : 1000. 15—20 Minuten) wird eine größere Störung hervorgerufen. Es äußert sich dies erstens darin, daß bei Zusatz des Samens nur ganz vereinzelte Eier in normaler Weise durch einen Samenfaden befruchtet werden, und zweitens darin, daß die Überfruchtung eine hochgradigere wird, indem jetzt anstatt zweier oder dreier Spermatozoen zahlreichere eindringen. Man kann so den Grad der Überfruchtung successive steigern. Hierbei scheint es ziemlich gleichgültig zu sein, ob man bei den stärker nikotinisierten Eiern eine schwächere oder stärkere Spermalösung anwendet. Denn als wir in zwei Uhrschälchen in gleicher Weise mit Nikotin behandelte Eier gleichzeitig mit einer stärkeren und einer um das Zehnfache verdünnten Spermalösung versetzten, war in den beiden Versuchen kein Unterschied im Hinblick auf die Anzahl der eingedrungenen Samenfäden zu konstatieren. Dieselbe scheint vielmehr lediglich zu der Nikotineinwirkung in Beziehung zu stehen.

Die Veränderungen, welche durch verschieden lang anhaltende Einwirkung des Nikotin's erzeugt werden, wollen wir an einer

Versuchsreihe erläutern, die mit einer Lösung (1:100) vorgenommen wurde. Schon nach fünf Minuten Einwirkung wurden nur ganz vereinzelte Eier in normaler Weise befruchtet, wie sich bei Eintritt des Teilungsstadiums am leichtesten und sichersten erkennen ließ. Die Eihaut wurde überall, auch bei den überfruchteten Eiern, vom Dotter in normaler Weise ringsum weit abgehoben. Meist drangen 3—5 Samenfäden in ein Ei ein. Die bei ihrem Eindringen entstehenden Befruchtungshügel waren auffallend breit und groß und daher besonders leicht wahrzunehmen. Allmählich verschmälerten und verlängerten sie sich und zogen sich in eine feine Spitze, wie beim normalen Vorgang, aus.

Ähnlich waren die Erscheinungen bei einer Nikotinisierung, die 10, 15 und selbst 20 Minuten dauerte, nur daß jetzt überall Überfruchtung erfolgte und die Anzahl der eingedrungenen Samenfäden noch stieg.

Nach 35 Minuten begann sich die Eihaut bei Zusatz des Samens nicht mehr in normaler Weise abzuheben. Die Abhebung erfolgte sehr langsam und es bildete sich zwischen Membran und Dotteroberfläche nur ein schmaler Spaltraum aus. Nach 50 Minuten blieb die Eihaut dem Dotter ganz aufliegen, setzte sich aber von ihm als doppelt kontourierte Membran deutlich ab. Die Zahl der eingedrungenen Spermatozoen war noch gestiegen. An ihren Eintrittsstellen bildeten sich noch Befruchtungshügel, aber von kleineren Dimensionen aus. Das Protoplasma reagierte noch auf die eingedrungenen Spermatozoen durch Strahlenbildung. Infolgedessen war bei der großen Anzahl der eingedrungenen Samenfäden nach einiger Zeit die ganze Dotteroberfläche ringsum mit Spermastrahlungen dicht bedeckt.

Noch längere Einwirkung des Nikotins wurde nicht versucht, so daß der Zeitpunkt, von welchem an der Zusatz des Sperma keinen Erfolg mehr hat, nicht näher bestimmt werden kann.

Über die Vorgänge, welche sich nach der Befruchtung im Innern des Eies abspielen, gewinnen wir genauere Einblicke durch Untersuchung des konservierten Materials. 15 bis 20 Minuten nach der Befruchtung ist in der Regel die Verbindung des Eikerns mit einem oder mehreren der eingedrungenen Spermatozoen erfolgt. Sind nur 2 oder 3 Spermatozoen in den Dotter eingedrungen, so wandern sie fast stets insgesamt auf den Eikern zu und lagern sich seiner Oberfläche an, bald dicht bei einander, bald an entgegengesetzten Punkten. In dem Falle, daß zwei Samenfäden

von entgegengesetzten Punkten ihre Wanderung begonnen und sich an entgegengesetzten Stellen mit dem Eikern verbunden haben, veranlassen sie denselben, eiförmige Gestalt anzunehmen und kommen selbst an die beiden Pole des Ovals zu liegen. Bei Überfruchtung durch eine größere Anzahl von Spermatozoen erreichen diese niemals alle den Anschluß an den Eikern. Taf. I, Fig. 1 u. 2. Entweder fügt sich ihm nur ein einziges oder deren zwei oder drei an, während die übrigen in einiger Entfernung vom Eikern ihre Wanderung einstellen und von einem Strahlenkranz umgeben selbständig weitere Metamorphosen durchmachen. Im Allgemeinen läßt sich hier beobachten, daß, je stärker der Grad der Überfruchtung ist, eine um so größere Anzahl von Spermakernen eine ganz oberflächliche Lage in der Dotterrinde beibehält. Zuweilen sind sie in derselben ziemlich gleichmäßig verteilt, zuweilen zu einzelnen Gruppen zusammengerückt.

Die Lage des befruchteten Eikerns ist an den überfruchteten Eiern eine abnorme. Während unter regulären Verhältnissen der Eikern, auch wenn er von Anfang an exzentrisch gelegen ist, nach der Befruchtung durch einen Spermakern eine zentrale Stellung im Dotter einnimmt und sich mit einer immer mehr sich ausdehnenden und schließlich die Oberfläche erreichenden Strahlenbildung umgiebt, zeigt er nach Überfruchtung in den meisten Fällen eine exzentrische Lage und behält dieselbe für die Folgezeit auch bei. Taf. I, Fig. 1 u. 2. Er wird nicht ringsum von einer sich vergrößernden Strahlung eingehüllt, sondern läßt so viele einzelne und kleine Strahlungen, als sich ihm Spermakerne verbunden haben, erkennen.

Nach der Kopulation der Kerne vollziehen sich im Innern der überfruchteten Eier während 50 bis 60 Minuten nur unbedeutende Veränderungen. Dieselben äußern sich einmal darin, daß die chromatische Substanz der Spermakerne, welche eine Zeit lang dem Eikern höckerartig aufsitzen, in das Innere desselben aufgenommen wird. Daher zeigt der Furchungskern so viel rundliche Flecke von Chromatin, als Spermakerne die Kopulation vollzogen haben. Taf. I, Fig. 3.

Später, am Ende des uns jetzt beschäftigenden Stadiums, beginnt sich die in den Eikern aufgenommene chromatische Substanz mehr in Fäden und Strängen auszubreiten. (Taf. I, Fig. 4).

Eine zweite Veränderung besteht in einer Größenzunahme der Kerne und zwar sowohl des Furchungskerns als auch der

nicht zur Kopulation gelangten Spermakerne. Die Größenzunahme beruht wohl hauptsächlich auf einer Aufnahme von Kernsaft aus dem Eidotter, infolgedessen namentlich die Spermakerne ihre ursprüngliche Konsistenz einbüßen und schon im frischen Zustand als wasserhelle, von Dotterstrahlung umgebene Bläschen leicht wahrgenommen werden können. Nach Reagentienbehandlung und Färbung mit Boraxkarmin lassen sie sich weniger intensiv als auf dem früheren Stadium tingieren.

Eine dritte Veränderung endlich bildet sich erst beim Übergang zum zweiten Stadium aus. Der zu einer größeren Blase angewachsene Furchungskern nimmt eine unregelmäßige Beschaffenheit seiner Oberfläche an, er zieht sich in mehrere Höcker oder oft ziemlich spitz auslaufende Zipfel aus, Fig. 4. An der Spitze derselben ließ sich häufig ein glänzendes Körnchen wahrnehmen, welches den Mittelpunkt einer Strahlenbildung abgiebt. Hier und da scheinen sich einzelne Spermakerne dem Furchungskern noch nachträglich zu nähern und in ihn aufgenommen zu werden, wie wir aus vereinzelten Befunden, in denen ein Spermakern dem Furchungskern auf einem vorgerückten Stadium noch äußerlich angelagert war, glauben schließen zu dürfen.

Im zweiten Stadium, welches die Veränderungen vom Undeutlichwerden des Eikerns bis zum Beginn der Teilung umfaßt, entstehen die verschiedenartigsten Kernfiguren, je nachdem sich mit dem Eikern zwei oder mehr Spermakerne verbunden haben und je nachdem außer ihnen noch isolierte Spermakerne im Dotter vorhanden gewesen sind.

Um uns ein übersichtliches Bild von den zahlreichen verschiedenen Fällen zu verschaffen, teilen wir dieselben in 3 Gruppen.

1. Gruppe. 2 Spermatozoen dringen in das Ei ein und verbinden sich mit dem Eikern.

2. Gruppe. 2 und mehr Spermatozoen dringen in das Ei ein; von ihnen verbindet sich aber nur ein einziges mit dem Eikern, während die übrigen sich für sich allein weiter umbilden.

3. Gruppe. Von zahlreichen in das Ei gedrungenen Samenfäden verbinden sich 2, 3 und mehr mit dem Eikern, während der Rest sich für sich allein weiter umbildet.

Erste Gruppe.

Die Kopulation zweier Spermakerne mit dem Eikern führt zur Entstehung eines Tetrasters, wie er schon von Fol beschrieben worden ist. An vier in regelmäßigen Abständen voneinander befindlichen Punkten des stark vergrößerten Furchungskerns treten vier Strahlensysteme auf (Fig. 6) und ist die Kernoberfläche in kurze Zipfel ausgezogen. Die chromatische Substanz beginnt sich in Form gewundener Fäden gleichmäßig im Kernraum auszubreiten. Dann verschwindet — wir beschreiben verschiedene konservierte Objekte in der Reihenfolge, welche sich aus ihrer feineren Struktur als selbstverständlich ergiebt (Fig. 7) — die Kernmembran, so daß nunmehr ein Haufen gewundener Nucleinfäden im Zentrum von vier Strahlungen eingeschlossen ist. Daraus entwickelt sich der typische Tetraster. Wie an zahlreichen Präparaten mit Deutlichkeit gesehen werden konnte, sind die Mittelpunkte der Strahlungen durch vier Kernspindeln, die in einer Ebene liegen (Fig. 8), untereinander verbunden. Die chromatische Substanz hat, wenn wir die 4 zu einem Quadrat verbundenen Spindeln von der Fläche erblicken, die Form eines Kreuzes mit 4 gleichen Schenkeln angenommen. Die Kreuzform ist aus dem chromatischen Fadenwerk hervorgegangen, weil sich einzelne gekrümmte kurze Chromatinstäbchen der Mitte einer jeden Spindel angelagert und sich so in gleichmäßiger Weise auf die 4 Spindeln zu verteilen begonnen haben. Dann teilt sich die Kernplatte einer jeden Spindel in der üblichen Weise in zwei Tochterplatten; diese wandern nach den Spindelenden hin, deren je zwei in einem Attraktionszentrum zusammenstoßen, und verbinden sich je zwei, um einen neuen bläschenförmigen Kern zu bilden. So erhält man (Fig. 5) aus den 8 Tochterkernplatten der 4 Spindeln, da sich diejenigen der Nachbarspindeln immer paarweise verbinden, nur vier höckerige Kerne, deren Lage im allgemeinen mit der Lage der vier Attraktionszentren zusammenfällt.

An derartigen Objekten haben wir den Theilungsvorgang beim Studium des frischen Materials genau verfolgen können. Es bilden sich gleichzeitig auf der Eioberfläche vier Furchen, die zwischen den 4 Kernen einschneiden. Die vier Quadranten bleiben eine Zeit lang im Mittelpunkt des Eies durch vier Stiele untereinander in Verbindung, bis auch diese einreißen. In Vierteilung begriffene Eier findet man zu derselben Zeit, wo die normal befruchteten sich in 2 Stücke zu teilen beginnen, da die Tetraster-

bildung nicht mehr Zeit als die einfache Spindelbildung für sich beansprucht. Beide Arten halten auch in ihrer weiteren Entwicklung gleichen Schritt. Wenn hier die Vierteilung, erfolgt dort dic Achtteilung und so weiter.

Eine ziemlich häufige Modifikation der Tetrasterbildung ist uns noch aufgestoßen, von welcher wir aber nicht anzugeben im stande sind, durch welche Ursachen sie bedingt ist, ob durch verspätete Annäherung des zweiten Spermakerns oder durch eine besondere Stellung desselben oder durch irgend ein anderes Moment.

An dem vergrößerten Keimkern, der in drei Zipfel ausgezogen ist, treten anstatt vier nur drei Strahlenbildungen auf, dagegen nimmt man in einiger Entfernung von dem Triaster noch eine isolierte Strahlung im Dotter wahr (Taf. I Fig. 9). Zwei Chromatinflecke, die an manchen Objekten im Kern aufgefunden wurden, könnte man wohl als Anzeigen betrachten, daß eine Befruchtung durch zwei Spermatozoen stattgefunden habe. An einem Präparat eines etwas weiter vorgerückten Stadiums ist das Chromatin in Fäden im Kernraum verteilt. Dann schwindet die Kernmembran. Zwischen den vier Strahlenzentren sind jetzt mit aller Deutlichkeit an gelungenen Präparaten die Spindelfasern wahrzunehmen. (Fig. 10). Die Lage der Spindeln aber differiert von der Lage in der typischen Tetrasterform. Denn nur drei Spindeln sind untereinander zu einem Dreieck verbunden und umschließen den zwischen ihnen zentral gelegenen Haufen von Chromatinfäden, die vierte Spindel hat sich zwischen der isolierten Strahlung und einer Strahlung des Triasters entwickelt. Während also im regulären Tetraster die beiden Enden der vier Spindeln gegenseitig verbunden sind, liegt hier ein Spindelende mit einer Strahlung frei im Dotter, in einer andern Strahlung stoßen 3, in der dritten und vierten je 2 Spindelenden zusammen. Diese ganze Gestaltung übt nun auch ihren Einfluß auf die Verteilung der Chromatinfäden aus. Dieselben ordnen sich in drei Kernplatten an, die in den Aquator der drei zu einem Triaster verbundenen Spindeln zu liegen kommen, während die vierte Spindel frei von Chromatinkörnchen zu bleiben scheint. Solche waren wenigstens an zahlreichen gut gelungenen Tinktionspräparaten bei der stärksten Vergrößerung nicht wahrzunehmen. Auf dem nächsten Stadium spalten sich die drei Kernplatten in je 2, welche nach den 3 Attraktionszentren auseinanderrücken. (Fig. 16.) An konserviertem Material haben wir die weitere Umbildung dieser eigentümlichen Kernteilungsform nicht verfolgen können. Doch haben wir mehrfach im frischem Zustand Eikerne

mit 3 Attraktionszentren und benachbarter vierter Strahlung aufgefunden und durch fortgesetzte Beobachtung feststellen können, daß Vierteilungen eintraten und zwar Vierteilungen, bei denen die eine Teilungsebene senkrecht zur anderen stand.

Zweite Gruppe.

An die Besprechung der Tetraster- und Triaster schließen wir einige seltnere Befunde an, welche dadurch hervorgerufen werden, daß zwar zwei oder drei Samenfäden in den Dotter eindringen, indessen nur einer von ihnen sich mit dem Eikern verbindet. Alsdann entwickelt sich aus diesem eine einfache typische Spindel, die aber meistens exzentrisch und zuweilen ganz oberflächlich im Dotter gelegen ist. Die Spermatozoen, die nicht zur Kopulation mit dem Eikern gelangt sind, gehen selbständig weitere Metamorphosen ein. Sie vergrößern sich, indem sie sich aus dem Dotter mit Kernsaft durchtränken. Daß die Vergrößerung nicht auf einer Vermehrung des Chromatins allein beruht, können wir wohl daraus schließen, daß an den Tinktionspräparaten sich die Spermakerne weniger intensiv als unmittelbar nach der Befruchtung färben. In vielen Fällen findet die Ansammlung von Kernsaft in der Weise statt, daß sich eine Vacuole bildet, in welche die chromatische Substanz wie ein Nucleolus eingeschlossen ist. Taf. I Fig. 6[a]. Noch etwas später beginnt sich die Spermastrahlung zu verdoppeln. So entsteht eine Bildung, welche wir als Samendoppelstern oder als Spermaamphiaster bezeichnen und vom Amphiaster des Furchungskernes eine Zeit lang durch ihre geringere Größe sofort unterscheiden können.

Zwischen den beiden Strahlungen geht allmählich der Spermakern aus der kugeligen in eine spindelige Form über. Die bei diesem Prozeß zur Beobachtung kommenden Bilder sind verschieden, je nachdem eine Vacuolenbildung stattgefunden hat oder nicht. In letzterem Falle entsteht eine kleine zuerst nicht faserig differenzierte, homogene Spindel, die aus zwei Substanzen zusammengesetzt ist, aus einer achromatischen, welche die beiden Spitzen der Spindel bildet, und aus Chromatin, welches das Mittelstück darstellt. Taf. I Fig. 17 und 18. Auf späteren Stadien kann sich der Unterschied zwischen den aus dem Furchungskern und den aus Spermakernen abstammenden Spindeln vollständig verwischen. Es entwickelt sich ein Bündel achromatischer Fäden, die mit ihren Enden in den Mittelpunkten der beiden Strahlungen zusammen-

stoßen. Aus dem chromatischen Mittelstück bilden sich die Chromatinfäden hervor.

Im andern Falle, wo es zur Bildung einer Vacuole gekommen ist, nimmt dieselbe zwischen den beiden Strahlungen eine ovale Form an. Die oben als Nucleolus beschriebene Substanz löst sich auf in Fäden und Körnchen, die zum Teil chromatisch sind (Fig. 11 a und b). Dann beginnen die Kontouren der längsgestreckten Vacuole zu verschwinden; die achromatischen Teile wandeln sich hierbei in ein Bündel von Spindelfasern um, deren Mitte die chromatischen Körnchen anliegen (Fig. 11 c und d).

Dritte Gruppe.

Kernfiguren von sehr verschiedenartigem und kompliziertem Aussehen entstehen, wenn eine größere Anzahl, etwa 5—10 Spermatozoen, in das Ei eingedrungen ist. Hier ist wieder der einfachste Fall der, daß sich zwei Spermakerne mit dem Eikern verbinden, 3—5 aber isoliert oder in Gruppen vereint im Dotter liegen. Es entwickelt sich alsdann gewöhnlich exzentrisch in der Eirinde die uns schon bekannte Triaster- und Tetrasterform. Die isolierten Spermakerne gestalten sich zu kleinen Spindeln um, wie sie schon oben beschrieben worden sind, und rufen an ihren beiden Enden im Dotter eine Strahlenbildung hervor (Taf. I Fig. 18).

Es ist nun von Interesse zu sehen und für das Verständnis der entstehenden Kernfiguren von Wichtigkeit, daß die einzelnen Spermaamphiaster das Bestreben haben, sich mit ihren Enden untereinander oder mit dem Spindelkomplex, welcher aus dem überfruchteten Eikern abstammt, in Verbindung zu setzen und so immer komplizierter werdende Figuren zu erzeugen. Zum Beispiel ist in Figur 18 die eine Strahlung eines Spermaamphiasters mit einer Strahlung eines Triasters zusammengeflossen. In einem anderen Fall haben sich in derselben Weise zwei Spermaamphiaster mit dem Tetraster verbunden.

In einem dritten Präparat sahen wir eine reguläre Tetrasterbildung und in einiger Entfernung von ihr ganz an der Oberfläche des Eies zwei Spermaamphiaster in der Weise zusammen verbunden, daß sie eine Strahlung gemeinsam haben. Die Aneinanderlagerung der Kerne ist also nicht nur auf das Anfangsstadium der Befruchtung beschränkt, sondern setzt sich auch dann noch fort, wenn bereits die faserige Differenzierung der Kernsubstanz begonnen hat. Es können aber auch die Samenspindeln bis zum Eintritt der Teilung für sich isoliert bleiben und gleichen sie dann

in den Veränderungen, die sie erleiden, und in ihrem Aussehen vollkommen den aus einem befruchteten Kern hervorgehenden Spindeln, wie es durch Fig. 19 illustriert wird. Neben einem Triaster, dessen Kernplatten nach den drei Polen auseinandergerückt sind, lassen sich vier isolierte Samenspindeln im Dotter ziemlich gleichmäßig verteilt nachweisen. Alle stehen sie genau in derselben Phase der Umbildung, indem ihre Kernplatten sich gespalten haben und wie beim Triaster in der Nähe der beiden Pole liegen.

Komplizierter werden die Figuren, wenn gleich von Anfang an mehr als zwei Spermakerne sich an den Eikern angelegt haben. Letzterer schwillt allmählich zu einem außergewöhnlichen Umfang an. An zahlreichen Stellen der Blase, die gewöhnlich zu kleinen Spitzen ausgebuchtet sind, entwickeln sich nach einiger Zeit Strahlungen. Dann ordnet sich die chromatische Substanz im Innern der Blase zu kleinen Fäden an, während an ihrer Oberfläche zwischen den Strahlungen zahlreiche Spindeln deutlich werden, die anfänglich nur von achromatischen Fäden gebildet werden. Ein derartiges Präparat ist in Fig. 13 abgebildet. Um einen zentral in Kernsaft eingebetteten Haufen chromatischer Fäden konnten wir bei Einstellung des Mikroskops auf verschiedene Ebenen sechs Strahlungen, von welchen eine etwas abseits liegt, bemerken. Dieselben hängen wenigstens durch sieben Spindeln untereinander zusammen.

Charakteristische und schärfer gezeichnete Figuren entstehen nach Verlauf von zwei bis drei Stunden. Es hat sich alsdann die chromatische Substanz in der bekannten Weise auf die einzelnen Spindeln verteilt, wodurch Zahl und Lage derselben besser zu bestimmen ist. Ferner haben sich jetzt auch in den stark überfruchteten Eiern alle Spermakerne, mögen sie sich der aus dem Eikern entstandenen Kernfigur angeschlossen oder untereinander verbunden haben oder isoliert geblieben sein, in typische Spindeln umgewandelt. Hiermit ist zugleich auch der Höhepunkt in der Mannigfaltigkeit wunderbarer Kernformen erreicht. Seltener findet man in derartigen Eiern ein einziges Aggregat zahlreicher Spindeln, häufiger deren zwei oder drei, zuweilen auch daneben einzelne isoliert gebliebene Spindeln.

Einige der zahlreichen von uns angefertigten Präparate mögen hier eine nähere Beschreibung finden.

Fig. 12 a, b zeigt uns eine relativ einfache Spindelanhäufung, welche man bei Einstellung des Mikroskops auf zwei Ebenen, b und a, klar übersieht. Bei höherer Einstellung (Fig. 12^{b}) nimmt

man drei Spindeln wahr, welche zu einem Triaster verbunden sind. Mit zwei Strahlungen desselben hängen noch zwei andere Spindeln zusammen; die eine geht von der Strahlung 1 aus, und wendet sich schräg nach abwärts, um mit ihrer zweiten Spitze in der etwas tiefer gelegenen Strahlung 2 (Fig. 12ª) zu enden. Die andere Spindel ist genau vertikal gestellt und reicht von der Strahlung 3 nach der erst bei tieferer Einstellung des Mikroskops sichtbar werdenden Strahlung 4. Zwischen 2 und 4 liegt abermals eine Spindel in schräger Richtung, und endlich ragt von der Strahlung 4 noch eine Spindel etwas tiefer herab zu der isolierten Strahlung 5. In der Mitte jeder Spindel findet sich chromatische Substanz als ein Streifen lebhaft tingierter Körnchen, während die chromatische Substanz der einen vertikal gestellten Spindel als ein Kreis roter Körnchen erscheint.

Einen zweiten Fall veranschaulicht Taf. II Fig. 20ª und ᵇ.

Vier Strahlungen liegen in etwas größerer Entfernung von einander in einer Ebene und sind durch fünf Spindeln, deren jede in ihrer Mitte eine Zone chromatischer Substanz zeigt, verbunden, und zwar so, daß vier Spindeln die Seite eines Rhombus bilden, während die fünfte sich quer zwischen den am meisten genährten Ecken des Rhombus ausspannt. Mit dieser Figur sind drei weitere Spindeln verbunden; eine Spindel, welche von der mit 1 bezeichneten Strahlung in schräger Richtung nach abwärts bis zu Punkt (2) reicht, eine Spindel, welche von 1 aus in vertikaler Richtung sich aufwärts bis zu Punkt 3 Tafel II, Fig. 20ᵇ erstreckt, und eine dritte Spindel, die von 3 beginnend horizontal liegt und nur bei höherer Einstellung des Mikroskopes zu sehen ist.

In seltenen Fällen können die Spindeln, anstatt nach verschiedenen Richtungen den Eiraum zu durchsetzen, auch dichter zusammengedrängt sein und eine kompakte und zuweilen sehr regelmäßige Figur erzeugen. Ein interessantes Beispiel liefert uns Taf. I Fig. 14. Die Summe der Kernspindeln stellt hier etwa eine plattgedrückte Kugel dar, deren beide Pole wir als x und y bezeichnen wollen und durch je eine Strahlung bezeichnet sehen. Am Pol x, den wir allein erblicken, da das Mikroskop auf die obere Fläche der Kugel eingestellt ist, treffen sechs Spindeln mit ihren Spitzen zusammen und reichen von hier, indem sie wie die Speichen eines Rades divergieren, mit ihren entgegengesetzten Spitzen an sechs Strahlungen heran, die in regelmäßigen Abständen den Äquator der Kugel umgrenzen. Diese sechs äquatorialen Strahlungen sind durch sechs Spindeln zu einem Ring vereinigt.

Dieselbe Anordnung wiederholt sich auf der uns abgewandten Seite der plattgedrückten Kugel, denn auch hier reichen von den sechs äquatorialen Strahlungen sechs Spindeln in radiärer Richtung zu der dem Beobachter abgewandten Polstrahlung y. Endlich sind noch die beiden Polstrahlungen x und y direkt durch eine vertikal gestellte Spindel verbunden, deren Kernplatte als ein Kreis von sechs Chromatinkörnchen sichtbar und etwa im Zentrum der kugeligen Figur gelegen ist. Es beläuft sich demnach in unserer Figur die Summe aller mit ihren Enden verknüpften Spindeln auf 19. Dabei stossen in den beiden Polstrahlungen sieben Spindelenden, in den sechs Äquatorialstrahlungen dagegen je vier Spindelenden zusammen.

Der Kernteilungsprozeß verläuft bei den so komplizierten Figuren genau in derselben Weise wie beim Triaster und Tetraster, wie wir an der Abbildung 15 a und b erläutern wollen. Die Kernfigur besteht hier aus 13 Spindeln. Den höchsten Punkt bezeichnet die Strahlung 1, von welcher sich in radiärer Richtung vier Spindeln zu den ein wenig tiefer gelegenen Strahlungen 2—5 begeben. Diese letzteren stehen noch in direkter Verbindung durch die in einem Halbkreis angeordneten Spindeln. Von Strahlung 1 führt außerdem eine genau vertikal gestellte Spindel zu der Strahlung 6, welche wieder den Mittelpunkt für einen tiefer gelegenen Teil der Kernfigur abgiebt. Denn erstens sehen wir von ihm wieder, wie von Punkt 1 sich drei Spindeln in radiärer und etwas aufsteigender Richtung mit den etwas höher gelegenen Strahlungen 3, 4 und 5 verbinden. Zweitens erstreckt sich von hier eine Spindel in entgegengesetzter Richtung zu der in der andern Eihälfte gelegenen Strahlung 7, von welcher noch unter rechtem Winkel eine Spindel zu der Strahlung 8 abgeht. Die in den vorhergehenden Abbildungen beschriebenen einfachen Zonen chromatischer Substanz haben sich gespalten und sind nach den Spindelenden auseinander gerückt. Auf diese Weise sammeln sich in der Umgebung der einzelnen Strahlungen, die gleichsam einzelne Attraktionszentren darstellen, da in ihnen eine abwechselnde Anzahl von Spindelenden zusammenstößt, auch eine wechselnde Menge von Streifen chromatischer Substanz. Zu den Attraktionszentren 5 und 6 mit ihren fünf Spindelenden rücken fünf Streifen chromatischer Substanz und schließen zu einem Kreis zusammen. Die Attraktionszentren 3 und 4 vereinigen je vier Streifen zu einem Halbring. In 5 und 7 sind zwei Körnchenstreifen vorhanden, während nach Strahlung 8 nur ein Streifen gerückt ist. Die Folge

ist, daß die einzelnen aus der Teilung hervorgehenden Tochterkerne sehr ungleiche Mengen chromatischer Substanz empfangen. Denn die Tochterkerne entstehen an den einzelnen Attraktionszentren, mit denen sie an Zahl übereinstimmen, aus der sich daselbst ansammelnden chromatischen Substanz. Man sieht daselbst wie Fig. 20 zeigt, einzelne Haufen kleiner Bläschen auftauchen, die sich vergrößern und schließlich zu einem einfachen, bläschenförmigen ovalen oder kugeligen Kern verschmelzen. Die zuerst auftretenden Haufen kleiner Bläschen stehen noch eine Zeitlang durch achromatische Spindelfäden, die aber bald schwinden, in Zusammenhang. In den Beispielen Fig. 14 und Fig. 15 würden mithin acht Tochterkerne, hier und dort aber in einer etwas abweichenden Weise entstehen müssen.

Wie schon gesagt, ist es bei den stark überfruchteten Eiern eine häufig zu beobachtende Erscheinung, daß sich im Dotter mehrere getrennte Komplexe von Spindeln entwickeln. Zum Beleg diene Fig. 21 a, b. In derselben treffen wir ein größeres exzentrisch gelegenes Aggregat von 10 Spindeln, welche wir bei Einstellung des Mikroskops auf zwei Ebenen überschauen können. In der einen Ebene (b) liegen fünf Spindeln, die zu einem Rhombus in der schon Taf. II Fig. 20 beschriebenen Weise verknüpft sind. Von der Strahlung 1 gehen nun in divergierender Richtung zwei Spindeln schräg aufwärts zu den bei einer etwas höheren Einstellung des Mikroskops (a) sichtbar werdenden Strahlungen 5 und 6. Indem von ihnen wieder zwei horizontal gelegene Spindeln ausgehen und sich in der Strahlung 7 treffen, entsteht ein zweiter etwas höher gelegener Rhombus. Beide Rhomben hängen, abgesehen von der ihnen gemeinsamen Strahlung 1, auch noch dadurch zusammen, daß sich zwischen die Strahlungen 2 und 3 des tieferen und die Strahlungen 5 und 6 des höheren Rhombus zwei vertikal gerichtete Spindeln einschieben.

Etwas abseits von dem beschriebenen Spindelkomplex liegt 1) eine einfache Spindel, deren chromatische Substanz bereits in zwei Streifen gespalten ist, 2) eine wie es schien, ganz isolierte und in ihrer Entstehung uns unklar gebliebene Strahlung, 3) ein Tetraster mit noch nicht scharf entwickelter Spindelbildung und einer zentral gelegenen noch nicht deutlich in einzelne Streifen gesonderten Ansammlung chromatischer Körnchen.

Über den weiteren Verlauf der Befruchtung bei den stark nikotinisierten Eiern ist jetzt noch folgendes zu berichten. Wenn sich die mehr oder minder zahlreichen Tochterkerne aus den Spin-

delaggregaten hervorgebildet haben, was im allgemeinen nach drei Stunden geschehen ist, so macht sich an den Eiern auch äußerlich der Eintritt des Zerklüftungsprozesses bemerklich. Es entwickeln sich zahlreiche, wohl zur Anzahl der Tochterkerne in Beziehung stehende Furchen auf der Oberfläche. Indem dieselben tiefer einschneiden, wird die Eioberfläche mit größeren und kleineren hervorgewölbten Höckern oder Knospen bedeckt, in denen je nach ihrer Größe ein oder mehrere Kerne eingeschlossen sind. Es können so ziemlich unregelmäßige Figuren entstehen. Die Knospen beginnen sich an ihrer Basis einzuschnüren und bleiben dann gewöhnlich noch einige Zeit durch Stiele im Zentrum des Teilungskörpers im Zusammenhang stehen. Dann isolieren sich die kleineren Knospen, die größeren beginnen kleinere Knospen zu treiben und dann auch zu zerfallen, so daß gewöhnlich eine halbe Stunde, nachdem sich die erste Furchenbildung gezeigt hat, das ganze Ei in zahlreiche Stücke von verschiedener Größe zerfallen ist. Die größeren davon enthalten oft mehrere Kerne. Wir nennen diesen für die Vielbefruchtung charakteristischen Prozeß, weil sich gleichzeitig viele und unregelmäßige Knospen bilden und zur Teilung führen, die Knospenfurchung.

2. Beeinflussung der Eier durch Morphium hydrochloricum.

Im Verhältnis zu den übrigen verwandten Stoffen haben Morphiumlösungen einen auffallend geringen Einfluß auf die Eier. Lösungen unter 0.1% rufen auch bei längerer Einwirkung keine nennenswerten Veränderungen hervor, und selbst bei Lösungen von 0.1% und 0.2% bedarf es einer stundenlangen Dauer, ehe man mit Sicherheit Abnormitäten in den Befruchtungsvorgängen feststellen kann. Da nun bei mehrstündigem Liegen der Eier die Einflüsse sich geltend machen, welche auch beim Verweilen in reinem Meerwasser unausbleiblich sind, und man somit es nicht mehr mit der Einwirkung des chemischen Stoffs allein zu thun hat, haben wir hauptsächlich mit konzentrierteren Lösungen von 0.4 und 0.6% experimentiert. Über die letztgenannte Konzentration hinauszugehen verbietet sich von selbst, da die in der Wärme bereitete Lösung dann anfängt, beim Erkalten Krystalle abzusetzen.

Unter dem Einfluß des Morphiums verlieren die Strahlungserscheinungen im Inneren des Eies an Intensität und auch die Befruchtungskegel bleiben klein, so daß es nicht leicht fällt, schon kurz nach der Befruchtung festzustellen, ob in normaler Weise nur

ein Spermatozoon oder ob zwei und mehr derselben eingedrungen sind. Zur Entscheidung dieser Frage haben wir daher vielfach die Beschaffenheit der späteren Entwicklungsstadien benutzt. Treten direkte Vierteilungen auf, zu einer Zeit, wo normalerweise die Eier erst zweigeteilt sein sollten, so kann man bei der Anwendung von Morphium, da dasselbe den Teilungsvorgang normal befruchteter Eier an und für sich nicht verändert, mit ziemlicher Sicherheit den Schluß ziehen, daß zwei oder drei Spermatozoen eingedrungen sind. Knospenfurchung ist ein Hinweis auf ausgesprochene Polyspermie. Auch die Bildung von Stereoblastulae und stark verzögerte Gastrulation können als Fingerzeige benützt werden, wenn sie auch nicht in gleichem Maaße beweiskräftig sind.

Versuche mit 0.1% und 0.2% Lösung.

Über die Versuche mit schwächeren Lösungen wollen wir kurz im Zusammenhang berichten. Während der ersten zwei Stunden der Einwirkung werden die Eier normal befruchtet, erst nach zweistündiger Behandlung beginnen allmählich Befruchtungen mit mehr als einem Spermatozoon aufzutreten. Nach dreistündiger Morphiumwirkung mehren sich die Fälle von Polyspermie, doch giebt es selbst nach sechs Stunden noch Eier, welche normal befruchtet werden.

Versuche mit 0.4% Morphiumlösung.

Während der ersten Stunde der Einwirkung ist so gut wie gar keine Veränderung der Eizellen zu konstatieren; erst von da ab kann man eine erhebliche Zahl von Eiern nachweisen, bei denen zwei oder mehr Spermatozoen eingedrungen sind. Immerhin kann man erst bei fünfstündiger Morphiumbehandlung mit einiger Sicherheit darauf rechnen, daß alle Eier von mehr als einem Spermatozoon befruchtet werden. Auf die Bildung der Dotterhaut hat eine 0.4% Morphiumlösung keinen Einfluß, dieselbe unterbleibt erst zu einer Zeit, wo es auch beim Liegenlassen der Eier in Wasser der Fall sein würde.

Zum Beweis des Gesagten besprechen wir zwei Versuchsreihen genauer.

1. Versuchsreihe mit 0.4% Morphiumlösung.

Am 3. April früh 7 Uhr 15 Min. wurden frisch aus dem Eierstocke entleerte Eier in eine 0.4% Morphiumlösung gebracht. Bei einer Einwirkungsdauer von 50 Minuten traten nur äußerst wenig Abnormitäten auf; bei zwei Eiern konnten doppelte Befruchtungs-

kegel, bei einem anderen im weiteren Verlauf deutliche Doppelstrahlungen erkannt werden. Nach Verlauf von zwei Stunden waren sämmtliche Eier in Teilung begriffen, einige wenige zerfielen sofort in vier Teilstücke, die meisten waren zweigeteilt.

Ganz ähnliche Resultate wurden erzielt, als die Eier um 8 Uhr 45 Min. zur Befruchtung aus dem Morphium herausgenommen wurden, nachdem sie $1\frac{1}{2}$ Stunden in der Lösung gelegen hatten. Ein geringer Unterschied wurde erst auf dem Stadium der Teilung bemerkbar, indem die Zahl der Vierteilungen sich als größer erwies und bei einigen auch die Anzeichen unregelmäßiger Knospung auftraten.

Eine wesentliche Veränderung ergab sich, als ein neuer Versuch um 9 Uhr 45 Min. mit Material, welches $2\frac{1}{2}$ Stunden in Morphium gelegen hatte, ausgeführt wurde. Schon gleich zu Anfang konnten an einigen Eiern doppelte Befruchtungskegel nachgewiesen werden. Als später die Strahlung deutlich wurde, mehrten sich die Eier mit unzweifelhafter Polyspermie. Demgemäß fielen auch die Bilder auf dem Teilungsstadium aus. Wohl der zehnte Teil zerfiel unmittelbar in vier Stücke, dazwischen waren wenige unregelmäßige Knospenteilungen. Um 2 Uhr, also vier Stunden nach der Befruchtung, waren alle Eier entweder vier- oder achtgeteilt.

Der vierte Versuch mit dem gleichen Ausgangsmaterial wurde um 11 Uhr nach fast vierstündiger Einwirkung des Morphiums ausgeführt. Die Membran wurde noch sehr deutlich abgehoben, aber sehr viele Eier zeigten gleich von Anfang an Polyspermie. Um $12\frac{3}{4}$ Uhr, nicht ganz zwei Stunden nach Vornahme der Befruchtung, war die Hälfte der Eier in Vierteilung und nur ein Viertel in normaler Zweiteilung begriffen. Der Rest bestand aus den verschiedensten Teilungsformen, welche zu einem Zerfall des Eies in eine große Anzahl Stücke führten. Bei manchen lag ein großes Stück auf der einen Seite, kleine knospenartige Teile auf der anderen Seite.

Bei dem fünften Versuch, welchen wir um 12 Uhr nach fast fünfstündiger Morphiumwirkung vornahmen, hob sich die Eihaut noch immer in normaler Weise ab, aber fast überall trat Polyspermie ein. Bei der Teilung waren normale Zweiteilungen spärlich, auch die Zahl der Vierteilungen war geringer geworden und betrug nur ein Drittel der Eier, dagegen hatten sich die unregelmäßigen Teilungsformen sehr vermehrt. Ein Rest von Eiern war bei den Versuchen übrig geblieben und wurde bis zum folgenden Tag in der Morphiumlösung belassen. Um 9 Uhr 15 M. (genau nach 26

Stunden) wurde mit ihnen noch eine letzte Befruchtung ausgeführt. Überall trat Polyspermie ein, bei einigen Eiern wurde die Dotterhaut nicht mehr abgehoben, bei den meisten trat dieser Prozeß indessen immer noch, wenn auch sehr verlangsamt ein. Bei einem Teil der letzteren war die Dotterhaut durch einen ziemlich weiten Zwischenraum von der Eioberfläche getrennt, bei anderen war sie nur wenig abgelöst. Am Abend waren die meisten Eier todt; die überlebenden gaben ein sehr mannigfaltiges Bild. Einige Eier waren nicht abgefurcht, enthielten aber im Innern große blasige Kerne, andere zeigten auf der einen Seite abgeschnürte Zellstücke, während der Rest eine vielkernige Protoplasmakugel war, noch andere unterlagen einer unregelmäßigen superfiziellen Furchung. Im großen und ganzen gewann man den Eindruck, daß die abgestorbenen Eier die genannten Teilungserscheinungen ebenfalls durchgemacht hatten und daß die überlebenden bald absterben würden.

2. Versuchsreihe mit 0.4% Morphiumlösung.

Eine zweite Versuchsreihe mit der 0.4% Morphiumlösung am 6. April ergab im wesentlichen gleiche Resultate. Die Eier wurden 11 Uhr 30 Min. in die Morphiumlösung entleert und successive befruchtet um

1) 12 Uhr nach ½ Stunde,
2) 12 Uhr 40 Min. nach 1 Stunde u. 10 Min.,
3) 1 Uhr 20 Min. nach fast 2 Stunden,
4) 2 Uhr 40 Min. nach 3 Stunden u. 10 Min.,
5) 4 Uhr 20 Min. nach fast 5 Stunden.

Wir können die ersten vier Versuche gemeinsam besprechen; sie wurden sämmtlich erst auf dem Teilungsstadium untersucht. In allen überwogen die Zweiteilungen, doch waren schon beim ersten Versuch Vierteilungen vorhanden. Ihre Zahl vermehrte sich proportional der Dauer der Morphiumeinwirkung und erreichte bei dem um 2 Uhr 40 M. befruchteten Eiquantum etwa ein Drittel.

Am folgenden Tag (7. April) Abends war das Blastulstadium erreicht. Die meisten Blastulae waren normal und zeigten die ersten Spuren der Gastrulation, einige enthielten wenige Körner im Innern, andere waren ganz vollgepfropft, und waren somit typische Stereoblastulae. Am folgenden Tag war bei ersteren die Gastrula fertig gestellt, und auch die pathologischen Formen schickten sich an, die Gastrulaeinstülpung zu bilden.

Ganz anders verhielt sich das um 4 Uhr 20 M. befruchtete Eimaterial. Hier trat nirgends normale Teilung ein; lange verharrten die Eier auf einem Zustand, wo ein einziger Kern mit zahlreichen Strahlungen vorhanden ist. Später wurden sie in 4, 5 und mehr knospenartig zusammenhängende Stücke eingeschnürt. Tags darauf hatten nur wenige Blastulae ein normales Ansehen; meist erblickte man Blastulae, deren Furchungshöhle zum Teil oder ganz mit glänzenden Körnchen erfüllt war. Die Gestalt derselben war unregelmäßig, vielfach eingebuchtet, hie und da sogar tief gelappt.

Am zweiten Tag waren die normal entwickelten Blastulae zu Gastrulae geworden; die unregelmäßigen Formen besassen nur ausnahmsweise einen Anfang der Gastrulaeinstülpung. Meist schwammen sie langsam herum mit anhängenden und sich ablösenden Zellfetzen. Einige waren geplatzt. Viele waren klein, offenbar weil sie Verluste am Körpermaße erlitten hatten. Die kleinen klebten öfters zusammen, als ob sie aus Teilung eines größeren Körpers hervorgegangen wären.

Versuche mit 0.6% Morphiumlösung.

Die meisten Versuchsreihen wurden mit 0.6% Morphiumlösung angesetzt. Denn es stellte sich heraus, daß selbst dieser außergewöhnliche Grad der Konzentration noch von den Eiern vertragen wurde. Da die Einwirkung rascher eintrat, waren die üblen Nebeneinflüße des langen Liegens im Wasser nicht zu befürchten.

1. Versuchsreihe.

Die erste Versuchsreihe wurde am 4. April um 8¾ Uhr angesetzt und die erste Befruchtung nach einer halben Stunde vorgenommen. Dieselbe schien überall eine ganz normale zu sein, wenigstens haben wir nirgends das Eindringen von mehr als einem Spermatozoon nachweisen können. Immerhin sprach der weitere Verlauf der Entwicklung dafür, daß hie und da Dispermie eingetreten war. Denn bei der Teilung wurden einige Eier direkt in vier Stücke erlegt, andere ergaben Knospungsfiguren.

Bei der Befruchtung um 9¾ Uhr (nach einstündiger Morphiumwirkung) war die Polyspermie in vielen Fällen ganz unzweifelhaft. Wir konnten dabei eine interessante Beobachtung machen. Zwischen der Oberfläche des Eies und der wenn auch etwas verlangsamt so doch deutlich und weit abgehobenen Eimembran fanden sich bei mehreren Eiern freibewegliche Spermatozoen. Sie schlängelten sich auf der Oberfläche des Eies hin und her, vermochten aber nicht in dieselbe einzudringen. Wir haben sie lange Zeit

unter dem Mikroskop beobachtet und feststellen können, daß ihre Bewegungen nach einiger Zeit schwächer wurden und endlich ganz aufhörten.

Nach Verlauf von zwei Stunden war das Teilungsstadium erreicht; die Hälfte der Eier zerfiel direkt in 4, die andere Hälfte in 2 Stücke. Spärlich war die Zahl der Knospungsfiguren.

Bei den beiden folgenden Befruchtungen, welche um $10\frac{1}{4}$ und $11\frac{1}{4}$ vorgenommen wurden, waren im Ganzen keine größeren Abweichungen im Vergleich zu dem vorher erwähnten Versuch nachzuweisen. Die Zahl der Vierteilungen schien sogar eine geringere zu sein; dafür hatten freilich die Knospungsfiguren zugenommen.

Die nächste und zugleich letzte Befruchtung wurde erst nach weiteren zwei Stunden ausgeführt. Die Eier hatten nunmehr $4\frac{1}{2}$ Stunden in 0.6% Morphiumlösung gelegen. Die Dotterhaut wurde nicht mehr in normaler Weise gebildet; sie hob sich blasenartig hier und dort ab, war aber schließlich ringsum vollkommen abgelöst. Überall drangen viele Spermatozoen ein, was zur Folge hatte, daß zur normalen Zeit nirgends Teilung eintrat. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden war meist noch der Eikern als große Blase, im weiteren Umkreis von vielen Spermastrahlungen umgeben, sichtbar. Selten war er in Spindelbildung übergegangen, ein Zeichen, daß eine Verschmelzung von Ei- und Sperma-Kern sich vollzogen hatte. Erst nach einer weiteren Stunde traten Furchungserscheinungen ein. Stets war an einem Pol das Ei intakt, am anderen schnürten sich dagegen knospenförmige Stücke in sehr mannigfacher Weise ab.

Die letzterwähnte Partie kam nicht zur Weiterentwicklung; alle übrigen ergaben dagegen gute Resultate. Nach zwei Tagen (am 6. April) war die Gastrulation bei einem Teil vollzogen, andere Eier waren noch Stereoblastulae. Auch hier mehrte sich die Zahl der Stereoblastulae in den einzelnen Partien proportional der Zeitdauer der Morphiumwirkung.

2. Versuchsreihe.

Am 5. April Nachmittags 4.30 wurden neue Eier in 0,6% Morphiumlösung gelegt. Die erste Partie wurde schon nach einer Viertelstunde befruchtet. In vielen Eiern ließ sich Doppelstrahlung erkennen; später ($6\frac{1}{2}$ Uhr) zeigte nur die Hälfte des Materiales normale Zweiteilung, der Rest vorwiegend Vierteilung und auch Knospungsfiguren. Nach 17stündiger Entwicklung fanden sich fast nur Blastulae mit normalem Aussehen, bei denen die

Mesenchymbildung noch nicht begonnen hatte; wenige Blastulae hatten kleine Haufen von Körnern in ihrer Furchungshöhle.

Bei der um 5 Uhr (also nach halbstündiger Morphiumwirkung) vorgenommenen Befruchtung war ebenfalls bei vielen Eiern Dispermie zu bemerken. Nach 1½stündiger Entwicklung befand sich ein Drittel in Zweiteilung, ein anderes Drittel in Vierteilung, der Rest zeigte Knospung. Nach 17 Stunden waren die meisten Eier zu normalen Blastulae geworden, wenige enthielten im Inneren Körnerhaufen.

Um 5 Uhr 15 Min. befruchtete Eier ließen hie und da schon drei Spermastrahlungen im Inneren des Eies erkennen. Am folgenden Tag waren wesentlich weniger normale Blastulae vorhanden; einige Blastulae waren sogar ganz von Körnchen vollgepfropft.

Die zwei weiteren Befruchtungen um 5.45 und 6 Uhr wurden mit verdünntem Sperma ausgeführt. Trotzdem drangen 2 oder 3 oder viele Spermatozoen in die Eier ein. Namentlich bei der 6 Uhr-Portion war die Polyspermie ganz überwiegend. Bei ihr waren daher am folgenden Tag nur wenige normale Blastulae zu sehen, freilich auch wenige Stereoblastulae, die meisten Larven hatten im Inneren Körnerhaufen von wechselnden Dimensionen. Unter den Stereoblastulae hatten einige große Kugeln in ihrem Inneren.

Bei allen Versuchen gelang die Weiterentwicklung; die normalen Blastulae wurden zu Gastrulae, auch die Blastulae mit geringer Körneranhäufung erfuhren die Einstülpung, nur die Stereoblastulae blieben unverändert.

3. Versuchsreihe.

Eine dritte Versuchsreihe wurde am 6. April 11 Uhr 30 Min. begonnen und die erste Befruchtung abermals nach einer Viertelstunde vorgenommen. Auf die Erscheinungen bei der Befruchtung konnte nicht geachtet werden, zur Beurteilung wurde das Verhalten bei der Teilung benutzt. Hierbei ergab sich, daß ein Viertel der Eier einer Vierteilung unterlag, die meisten übrigen in normaler Weise sich zweiteilten, wenige Eier Knospungsfiguren lieferten. Nach 24 Stunden waren fast alle zu normalen Blastulae, nach weiteren 24 Stunden zu normalen Gastrulae geworden. Wenige Blastulae enthielten Körnerhaufen in der Furchungshöhle, noch weniger waren davon ganz angefüllt. Diese hatten 48 Stunden nach der Befruchtung noch keine Gastrulae gebildet. Am 10. April fanden sich fast nur normale Plutei.

Bei einer zweiten Partie, welche eine halbe Stunde in der Morphiumlösung gelegen hatte, teilte ein Drittel der Eier sich sofort in vier Stücke. Später waren keine Unterschiede zur ersten Partie erkennbar.

Beim folgenden Versuch wurde die Einwirkungsdauer des Morphium auf 1 Stunde 10 Min. ausgedehnt (11.30 — 12.40). Die Zahl der Vierteilungen steigerte sich bis zur Hälfte, auch die Knospungsfiguren hatten zugenommen, der Rest (fast $\frac{1}{2}$) bestand aus Zweiteilungen. Abends 6 Uhr hatten alle Eier ein sehr gleichförmiges und regelmäßiges Aussehen, sie ließen sich von normalen Morulae nicht unterscheiden. Auch am folgenden Tag waren die meisten Larvenformen ganz normal, einige enthielten Körnerhaufen in der Furchungshöhle, wenige waren davon ganz erfüllt. Am dritten Tag war über die Hälfte in die vollständige Gastrulaform übergeführt, die übrigen waren Blastulae mit mehr oder minder stark entwickeltem Körnerinhalt und zeigten fast sämtlich die Anfänge der Gastrulation. Am 12. April schwammen viele Plutei frei herum, viele Larven lagen am Boden und waren noch Gastrulae, deren Furchungshöhle mit Körnern erfüllt war. Immerhin hatte auch bei ihnen die Umwandlung in den Pluteus begonnen.

Eine vierte Befruchtung wurde 1 Uhr 20 Min. ausgeführt mit Eiern, welche somit fast zwei Stunden in Morphium gelegen hatten. Über die Hälfte erlitt Vierteilung, auch die Zahl der Knospungsfiguren war ansehnlich, so daß auf die normalen Zweiteilungen nur ein Drittel kam. Auch hier hatten die abgefurchten Eier ein gutes Aussehen, und waren unter ihnen am folgenden Tage wenige Blastulae, bei denen Körnerhaufen in der Furchungshöhle lagen. Am dritten Tag war bei der Hälfte die Gastrula ausgebildet, bei der anderen Hälfte wurde die Einstülpung angelegt. Hier waren dann die Furchungshöhlen mit Körnerhaufen erfüllt.

Im Vergleich zu den bisher besprochenen Entwicklungsreihen ergab die nächst folgende erhebliche Unterschiede. Sie wurde 2.10 angesetzt, nachdem die Eier von 11.30 an, d. h. 2 Stunden 40 Min. im Morphium gelegen hatten. Die Zweiteilung trat ganz zurück, auch die Zahl der Vierteilungen war nicht groß; um so mehr überwogen die Knospungen. Abends waren die Eier zwar abgefurcht, die einzelnen Furchungskugeln aber sehr ungleich groß. Tags darauf waren viele Larven unregelmäßig eingeschnürt; fast alle enthielten Körnerhaufen im Inneren, wenn auch nur wenige prall erfüllt waren. Viele von ihnen starben ab, bevor das Gastrula-

stadium eingetreten war, einige erreichten sehr spät das Gastrulastadium, einige wurden rechtzeitig zu Gastrulae umgebildet. Am 15. April war nur ein kleiner Teil noch vorhanden, und diese enthielten in ihrer Furchungshöhle Körnerhaufen; nur zum Teil waren sie zu Plutei geworden, andere waren über das Gastrulastadium nicht hinausgekommen.

Die längste Einwirkungsdauer des Morphium bei der vorliegenden Versuchsreihe war drei Stunden, von 11.30—2.40. Lange Zeit blieb der Eikern bestehen, umgeben von vielen Spermastrahlungen; dann trat Knospenfurchung ein; äußerst wenige Eier teilten sich in vier Stücke.

3. Beeinflussung der Eier durch Strychninlösungen.

Die Strychninbehandlung ruft bei den Eiern der Seeigel Erscheinungen hervor, welche in wichtigen Punkten von denen sich unterscheiden, welche im Verlauf der Morphiumeinwirkung erzielt werden. Die Strahlungsfiguren sind nicht allein nicht herabgesetzt, sondern sogar verstärkt, die Befruchtungskegel ragen auffallend stark über die Eioberfläche hervor und entspringen mit breiter Basis aus dem Dotter, so daß es leichter als sonst fällt, die Zahl der eingedrungenen Spermatozoen zu bestimmen.

Ferner treten die Veränderungen sehr rasch ein. Bei stärkeren Lösungen genügten schon fünf Minuten, vielleicht könnte man die Zeitdauer sogar noch geringer bemessen, bei schwächeren Lösungen war schon eine Einwirkung von 20 Minuten ausreichend. Dabei kann man die Konzentration der Lösungen sehr gering nehmen, indem schon eine 0,005% Strychninlösung bei 10 Minuten einen merklichen, bei 20 Minuten sogar einen ganz erheblichen Einfluß hat. Wir besprechen die Einwirkungen der einzelnen Lösungen getrennt.

1) Versuche mit 0.005% Strychninlösung.

Bei einem ersten Versuch ergab sich, daß schon eine Einwirkung von 10 Minuten eine starke Polyspermie zur Folge hatte. Es ließ sich das sofort am Anfang konstatieren und fand später in der Beobachtung, daß fast nur Vierteilungen und Knospenfurchungen eintraten, seine Bestätigung; zum Teil hatte die Polyspermie in der besonderen Beschaffenheit der Eizellen ihren Grund. Denn als diese, ohne vorher der Strychninwirkung unterlegen zu haben, befruchtet wurden, wurde die Eimembran verlangsamt abgehoben, ein Zeichen, daß das Material gelitten hatte. Demgemäß stellte es sich bei einem zweiten Versuch mit einem an-

deren Tier heraus, daß selbst bei 20 Minuten langer Dauer höchstens ein Drittel der Eier von mehr als einem Spermatozoon befruchtet wurde.

2. Versuche mit 0.0075% Strychninlösung.

Die geringfügige Verstärkung der Lösung von 0.025% hatte schon wesentlich andere Resultate zur Folge. Es wurden Einwirkungsdauern von 10, 15 und 20 Minuten gewählt. Sowohl die Untersuchung des frischen Materials als auch die Behandlung mit Reagentien führten zu dem Resultat, daß nur ein kleiner Teil Eier von einem Spermatozoen, der Rest dagegen von mehreren, meist 2, selten 3—5 Spermatozoen befruchtet worden war. Proportional der Einwirkungsdauer nahm die Zahl der monospermen Eier ab, die Zahl der polyspermen zu. Als Teilung eintrat, zerfiel daher auch die Hälfte der Eier in vier Stücke, die andere Hälfte war von Zweiteilungen und Knospungsfiguren gebildet. Das relative Verhältnis beider zu einander war nun derart, daß bei der Einwirkungsdauer von 10 Minuten die Zweiteilungen, bei der Einwirkungsdauer von 20 Minuten die Knospungsfiguren überwogen.

Die Eier der drei Serien wurden gemeinsam weiter kultiviert und entwickelten sich zu einem Gemisch von Blastulae, Stereoblastulae und Übergangsformen beider. Die Mehrzahl erreichte das Pluteusstadium, wenn auch viele zuvor abstarben.

3) Versuche mit 0.01% Strychninlösung.

1. Versuch. Bei einer Einwirkungsdauer von fünf Minuten konnte keine Polyspermie nachgewiesen werden, weder durch eine Vermehrung der Strahlungen noch der Befruchtungskegel. Tags darauf waren die meisten Blastulae normal, wenige enthielten in der Furchungshöhle Körnerhaufen. Am dritten Tag der Entwicklung war nur ein Drittel der Eier zu normalen Gastrulae geworden, alle übrigen Larven besaßen die Furchungshöhle mit Körnerhaufen angefüllt, zum Teil waren sie schon zu Gastrulae geworden, zum Teil waren sie erst im Begriff, die Einstülpung zu bilden. Am siebenten Tag waren noch keine Pluteusformen erkennbar. Wenn auch die Larven Spicula und einen Ösophagus besassen, so waren sie doch meist noch kugelig und zeigten eine übermäßige Mesenchymentwicklung.

Das Gesagte gilt auch von einer zweiten Partie Eier, welche 10 Minuten im Strychnin gelegen hatte. Nur konnte bei derselben in einigen Fällen das Eindringen von mehreren Spermatozoen an der Vermehrung der Spermastrahlungen erkannt werden.

Eine dritte Partie Eier blieb 20 Min. in der 0.01% Strychninlösung liegen, ehe sie befruchtet wurde. Hier war gleich von Anfang an bei einigen Eiern die Vielbefruchtung unzweifelhaft, indem sie 2—3 Befruchtungskegel besaßen; noch sicherer war die weite Verbreitung der Polyspermie später an den Spermastrahlungen zu erkennen. Tags darauf waren fast nur Stereoblastulae vorhanden, welche erst am dritten Tag der Entwicklung teilweise anfingen die Gastrula zu bilden, während andere zerplatzten und zu Grunde gingen. Am 17. Tage lebten nur noch wenige Larven als kugelige Stereoblastulae oder als leidlich normal aussehende Plutei.

Die letzte Partie Eier war eine halbe Stunde lang der Strychninwirkung ausgesetzt worden; daher zeigte denn ein jedes Ei nach der Befruchtung gleich auf den ersten Blick mehr als einen Befruchtungshügel; an einigen zählten wir sechs; später traten in jedem Ei mehrere Spermastrahlungen auf. Die Blastulae, welche aus dieser Entwicklung stammten, hatten fast alle ein schlechtes Aussehen und starben in großer Anzahl bald ab. Einige von ihnen, obwohl im Inneren vollgepfropft von Körnchen, bildeten am dritten Tage das Gastrulasäckchen aus und nahmen am siebenten Tage die Pluteusgestalt an.

2. Versuch. Eier, welche von einem anderen Weibchen stammten, wurden an dem gleichen Tag (11. April) 10 und 15 Minuten der Behandlung mit Strychnin ausgesetzt und beide Partien, da sie keine größeren Unterschiede ergaben, in dasselbe Schälchen vereint. Unter den Teilungen waren viele Vierteilungen und Knospungsfiguren. Am Tag darauf hatten alle Blastulae ein gutes Aussehen, doch waren sie nur zu einem Drittel normal, ein zweites Drittel hatte eine ganz von Körnchen erfüllte Furchungshöhle, bei einem dritten Drittel war das nur teilweise der Fall. Am 14. April schwamm ein Teil der Larven frei im Wasser herum, ein anderer Teil lag nach wie vor am Boden. Der erstere bestand aus Gastrulae, welche in Umbildung zu Plutei begriffen waren, und aus Stereoblastulae, bei denen die Einstülpung sich entwickelte. Am Boden befanden sich Stereoblastulae von zerfetztem Aussehen, die von losgelösten Zellhaufen bedeckt waren. Am 18. April endlich schwärmten viele Plutei im Wasser, einige davon mit doppelter Spitze und mit im Übermaß entwickelten Stacheln. Die Stereoblastulae hatten sich, so weit sie nicht abgestorben waren, in Gastrulae verwandelt.

4) Versuche mit 0.025% Strychninlösung.

Obwohl die Strychninlösung nur fünf Minuten auf das Eimaterial einwirkte, waren doch die Eier in hohem Maße alteriert. Als

die Befruchtung vorgenommen wurde (11. April 3 Uhr 20 Min.), hob sich zwar die Dottermembran rasch ab, allein es trat wohl überall Polyspermie ein. An vielen Eiern waren 2—3 Befruchtungskegel zu sehen, später traten im Inneren 4 und mehr Spermastrahlungen auf. Die inneren Befruchtungsvorgänge waren meist nach Verlauf von 1½ Stunden noch nicht abgelaufen. Neben den Spermastrahlungen war der Eikern zumeist noch zu sehen, oder er fing erst an in Beziehung zu den Spermakernen zu treten. Am 12. April schwammen im Wasser fast nur Stereoblastulae von gutem Aussehen herum. In den folgenden Tagen starben aber die meisten derselben ab, die übrigen waren in der Bildung der Gastrula mehr oder minder vorgeschritten.

5. Versuche mit 0.1% Strychninlösung.

Die ersten orientierenden Versuche über die Strychninwirkung wurden mit 0.1% und 0.25% Strychninlösung gemacht und zwar bei einer Einwirkungsdauer von 5 Minuten, 10 Minuten und 20 Minuten.

Eier, welche am 7. April Nachmittags mit 0.1% Strychninlösung 5 Minuten lang behandelt worden waren, zeigten bei der Befruchtung sofort starke Polyspermie; fast ein jedes besaß mehrere außerordentlich breite Befruchtungshügel, später sehr deutlich mehrere Spermastrahlungen, dabei wurde die Eimembran rasch abgehoben. Nach zwei Stunden, als Teilung eintrat, war nur ein Drittel in Zwei- oder Vierteilung begriffen, sonst waren nur Knospungsfiguren zu sehen. Am folgenden Tag waren nur Stereoblastulae in der Zucht vorhanden, zum Teil schwammen dieselben frei herum und hatten eine glatte Oberfläche, zum Teil lagen sie mit unregelmäßig höckeriger Gestalt am Boden. Am zweiten und dritten Tag schwamm eine große Anzahl leidlich aussehender Blastulae im Wasser herum; nur ein Viertel lag am Boden. Am 14. April (sieben Tage nach der Befruchtung) waren immer noch die Blastulae in überwiegender Zahl; manche waren ganz klein, weil sie wahrscheinlich einen Teil ihres Zellmaterials ausgestoßen hatten. Gering war die Zahl der Gastrulae, noch geringer die der Plutei.

Nach einer 10 Minuten dauernden Behandlung mit Strychnin wurde bei der Befruchtung die Eihaut etwas verlangsamt abgehoben. Polyspermie trat ein wie bei der beschriebenen Partie; die Spermastrahlungen im Innern der Eizellen waren deutlich ausgeprägt. Reguläre Teilungen erfolgten gar nicht mehr, sondern

unregelmäßige Knospungen. Am folgenden Tage lagen alle Blastulae noch am Boden, ihr Inneres war von Körnerhaufen erfüllt, ihre Gestalt sehr unregelmäßig. Am Tag darauf besserten sich die Verhältnisse, indem etwa drei Viertel eine leidlich normale Gestalt angenommen hatten und frei im Wasser schwammen. Für die späteren Stadien gilt alles, was auf der vorigen Seite von den fünf Minuten lang behandelten Eiern gesagt wurde.

Bei Eiern, welche 20 Minuten lang in der Strychninlösung verweilt hatten, war rücksichtlich der Befruchtungserscheinungen nichts besonderes zu erwähnen. Die Eihaut wurde noch, wenn auch verlangsamt, gebildet. Aber bei der Teilung ergaben sich Unterschiede, indem die Eier in höchst unregelmäßiger Weise durch oberflächliche Furchen in größere und kleinere im Innern zusammenhängende Stücke zerlegt wurden. Nur ein Teil der Larven vermochte am Tag darauf die Eihaut zu verlassen, bei der Hälfte blieb der Embryo als ein Haufe von kleineren und größeren Zellkugeln in der Eihaut liegen. Eine weitere Entwicklung trat nicht ein.

Alle diese Erscheinungen steigerten sich bei einer Einwirkungsdauer des Strychnins von 45 Minuten. Jetzt wurde auch die Eihaut nicht mehr ordentlich abgehoben und war nur durch einen schmalen Spalt vom Ei getrennt. Die Strahlungsfiguren dagegen waren noch deutlich. Die Eier zerfielen in große und kleine Teilstücke mit mächtigen Kernen, aber die so gebildeten Embryonen verließen die Eihülle nicht mehr. Nach 1¼stündiger Einwirkung des Reagens unterblieb die Membranbildung vollständig.

6) Versuche mit 0.25% Strychninlösung.

Schon bei einer 5 Minuten lang dauernden Behandlung mit 0.25% Strychnin war bei der Befruchtung eine Verlangsamung in der Abhebung der Eimembran zu konstatieren. Das Ei bedeckte sich mit vielen großen Befruchtungshügeln, denen dann auch viele sehr deutliche Spermastrahlungen entsprachen. Zweiteilungen waren nicht zu beobachten, Vierteilungen nur in geringer Zahl, und so wurde die Hauptmasse der Eier durch Knospenfurchung in Blastulae übergeführt. Diese hatten am folgenden Tag ein zerfetztes Außere, flimmerten zwar, vermochten sich aber nicht über den Boden zu erheben und frei herum zu schwimmen. Meist gingen sie bald zu Grunde, wenige lebten noch am zweiten Tag.

Über die Resultate, welche bei einer 10 Minuten langen Behandlung erzielt wurden, kann ich mit wenigen Worten hinweg-

gehen, da sie im Vergleich zu dem Vorigen nur eine geringe Steigerung der Einwirkung des Giftes boten. Wurde nun die Einwirkungsdauer noch weiter auf 25 Minuten und darüber gesteigert, so unterblieb die Bildung der Eimembran hie und da ganz. Die Strahlungsfiguren im Inneren des Eies wurden undeutlich. Immer seltener wurden die Fälle, in denen das Ei durch Knospung in unregelmäßige Stücke zerlegt wurde; immer mehr wurde es dagegen zur Regel, daß die Eier abstarben, bevor noch Andeutungen einer Furchung eingetreten waren. Nach einstündiger Einwirkung unterblieb schließlich auch die Bildung der Dotterhaut.

4. Beeinflussung der Eier durch Chloralhydrat.

Zu den Versuchen wurden Lösungen von 0,1 und 0,2 und 0,5 % Chloralhydrat im Meerwasser angewandt. Die erstere Lösung rief bei kurzer Anwendung keine sichtbaren Veränderungen in der Eizelle hervor. Denn als Eier von 4 Uhr 15 Min. bis 4 Uhr 25 Min. in eine 0,1 % Lösung gebracht worden waren, wurden sie in normaler Weise befruchtet und teilten sich um 6 Uhr 10 Min. Das Gleiche trat ein, als die Einwirkung noch um 10 Minuten verlängert wurde. (4 Uhr 15 bis 4 Uhr 35 Min.)

Auch eine 0,2 % Chlorallösung wirkte nicht bei kurz bemessener Zeitdauer. Eier, welche in derselben 10 Minuten (4 Uhr 15 bis 4 Uhr 25 Min.) verweilten, zeigten reguläre Zweiteilung. Wenn die Lösung aber länger als 10 Minuten wirkte, so wurden Störungen hervorgerufen, wie die folgenden 3 Versuche lehrten.

1. Versuch. Die Eier verweilten von 11 Uhr 5 bis 11 Uhr 17 Min. in Chloralhydrat. Als nun Sperma hinzugefügt wurde, erfolgte bei den meisten normale Befruchtung; nur in eine kleine Anzahl drangen mehrere Samenfäden ein und veranlaßten unregelmäßige Furchung.

2. Versuch. Eine Anzahl Eier war drei und eine halbe Stunde in der Chlorallösung belassen worden. Trotzdem reagierten dieselben noch bei Zusatz von Sperma dadurch, daß sich die Eihaut abhob. Indessen trat überall Polyspermie ein. Denn um 4 Uhr zeigten sich in jedem Ei auf das deutlichste viele Spermakerne. Dieselben hatten an Größe zugenommen und waren bläschenförmig geworden. Zwischen ihnen war meistentheils der größere Eikern noch sichtbar, doch nur kurze Zeit. Um 4 Uhr 30 Min. war er geschwunden, wahrscheinlich weil Umbildung zur Kernspindel eingetreten war.

3. Versuch. In einem dritten Versuch ließen wir das Chloral von 11 Uhr 5 bis 3 Uhr 40 Min., also vier und eine halbe Stunde auf die Eier einwirken. Unter dem Mikroskop untersucht, noch ehe der Samen zugesetzt wurde, zeigten sich Veränderungen im Dotter. Derselbe war etwas grobkörnig geworden. Trotzdem hob sich bei der Befruchtung noch die Eihaut ab. Auch hier gab sich die Überfruchtung später auf das deutlichste dadurch zu erkennen, daß um 4 Uhr 30 Min. im Dotter viele bläschenförmige Spermakerne sichtbar wurden.

Zahlreichere Versuche wurden mit einer Chlorallösung von 0,5 %, deren Wirkung eine viel intensivere war, angestellt. Wir teilen hierüber 3 Versuche mit.

1. Versuch. Am 1. April wurde eine größere Quantität Eier in eine 0,5 %ige Lösung von Chloralhydrat gebracht. Nach verschiedener Dauer der Einwirkung wurden kleinere Portionen herausgenommen und befruchtet. Als nach 5 Minuten Samen hinzugefügt wurde, hob sich bei allen Eiern die Dotterhaut ab; doch war jetzt überall Polyspermie eingetreten (Tafel II, Fig. 1), welche man gleich von Anfang an den zahlreichen Befruchtungshügeln erkennen konnte. Infolge des Chloraleinflusses entwickelte sich indessen keine Spur von Strahlung in der Umgebung der eingedrungenen Samenfadenköpfe, auch war die ganze Weiterentwicklung eine außerordentlich verlangsamte. Denn selbst nach einer Stunde war der Eikern noch unverändert und deutlich zu sehen, ohne mit den Spermakernen verschmolzen zu sein (Tafel II, Fig. 2). Diese hatten währenddem an Größe zugenommen und sich durch Aufnahme von Flüssigkeit in Bläschen umgewandelt. Noch später verschwanden der Eikern und die Spermabläschen, und an ihrer Statt waren im Dotter zahlreiche, in verschiedener Weise angeordnete Strahlungen wahrzunehmen. Um 2 Uhr entwickelten sich gleichzeitig zahlreiche Einschnürungen und Höcker (Tafel II, Fig. 3), durch welche sich das Ei langsam und in unregelmäßiger Weise in viele kleine und größere Teilstücke nach dem Typus der Knospenfurchung auflöste.

Andere Eiportionen wurden nach 10, 20, 30, 40 und 50 Minuten aus der Lösung genommen und befruchtet. Auch jetzt noch hob sich in allen diesen Fällen die Eihaut unter Eindringen vieler Samenfäden vom Dotter ab. Desgleichen vollzogen sich die weiteren Veränderungen in der vorhin beschriebenen Weise, so daß etwa um 3 Uhr 50 Min. die Knospung erfolgte.

Wenn die Chloralwirkung noch längere Zeit dauerte, wurden

die Befruchtungserscheinungen etwas abgeändert. Bei einem Eiquantum, welches von 11 Uhr 20 bis 2 Uhr 30 Min. in Chloral blieb, hob sich bei der Befruchtung die Eihaut nicht mehr ab; gleichwohl waren viele Spermatozoen eingedrungen, sowie auch um 4 Uhr 50 Min. viele Spermakerne aus ihnen entstanden waren. Erst als die Eier 4 Stunden in Chloral verweilt hatten, waren sie nicht mehr befruchtungsfähig und wahrscheinlich abgestorben oder wenigstens im Absterben begriffen, da das Eiplasma sich verändert zeigte und grobkörnig geworden war.

Die von so zahlreichen Spermatozoen befruchteten Eier haben sich in einzelnen Exemplaren noch sieben Tage lang weiter züchten lassen. Am 2. April wurden in den Versuchsschälchen flimmernde Blastulae in großer Anzahl nachgewiesen; doch wichen sie von normalen Blastulae ab. Die Kugeloberfläche bestand aus einer einfachen Lage hoher flimmernder Cylinderzellen; anstatt mit Gallerte aber war das Innere mit größeren und kleineren kugeligen und glänzenden Körpern, welche wie Detritus aussahen, angefüllt. In dieser Weise waren viele Larven noch am folgenden Tage unverändert erhalten und flimmerten im Wasser herum. Bei anderen hatte sich die Zellschicht an einem Pole verdickt und etwas pigmentiert, am entgegengesetzten Pole abgeplattet, womit die Einleitung zur Gastrulation gegeben war, da die verdickte Stelle sich später einstülpte. Am 4. April zeigten sich zu unserer Überraschung im Wasser einige Pluteusformen mit Kalkskelet und braunen Pigmentflecken; teils sahen sie ziemlich normal aus, teils waren sie verkrüppelt. Zwischen ihnen flimmerten immer noch Blastulae herum, welche gegen früher nur die eine Veränderung erkennen ließen, daß auf ihrer Oberfläche mehrere braune Pigmentpunkte entstanden waren. Andere und zwar nicht wenige Larven waren abgestorben und zerfallen. Am 7. April, wo wir das Zuchtglas zum letzten Mal durchmusterten, waren noch Plutei am Leben.

2. Versuch. Am Sonntag, den 5. April, wurden Eier von 10 Uhr 25 bis 10 Uhr 50 Min. in Chloral gebracht und dann befruchtet. Es bildeten sich unter Abhebung der Eihaut viele Befruchtungshügel. Strahlung konnte im Innern des Dotters nicht gesehen werden. Um 2½ Uhr erfolgte Knospenfurchung in viele kleinere und größere Stücke. Am folgenden Tage waren zahlreiche in der oben beschriebenen Weise abnorm gestaltete flimmernde Blastulae entstanden. Am Abend begann schon bei einzelnen die Gastrulation. Am Dienstag und noch mehr am Mittwoch schwammen viele Gastrulae, welche Gallerte und Kalknadeln auszu-

scheiden begonnen hatten, in dem Wasser herum. Währenddem waren einzelne Larven, welche sich am Grund des Uhrschälchens angesammelt hatten, zerfallen.

3. Versuch. Am Dienstag den 7. April wurde ein Versuch in der Weise ausgeführt, daß nach einer Chloraleinwirkung von 10 Minuten den Eiern außerordentlich stark verdünnte Samenflüssigkeit zugesetzt wurde. Die Eihaut wurde überall abgehoben. Viele breite Befruchtungshügel entstanden. Um 3 Uhr 15 Min. erkannte man im Dotter die zahlreichen Spermakerne als kleine, helle Flecke, aber noch ohne Spur von Strahlung in ihrer Umgebung. Dieselbe machte sich erst eine Viertelstunde später bemerkbar. Um 5 Uhr begann der Knospungsprozeß, aber in einer noch unregelmäßigeren Weise als bei Eiern, die zum Vergleich gleichzeitig mit Nicotin behandelt worden waren. Trotzdem kam es am folgenden Tag zur Entstehung von Blastulae, deren manche in hohem Grade pathologisch verändert waren. Denn den Flimmerkugeln hingen auf ihrer Oberfläche viele aus dem Verbande der übrigen ausgeschiedene Zellen und Zellenhaufen an, sowie auch im Innern der Kugel Detritus angesammelt war. Am Freitag lebten noch die mißgebildeten Larven, aus denen zum Teil Gastrulae geworden waren, und wurden von da nicht weiter gezüchtet.

5. Beeinflussung der Eier durch Chloroform.

Wie schon in der Einleitung hervorgehoben wurde, ist das Chloroform dasjenige Mittel gewesen, welches den Anstoß zu der vorliegenden Arbeit gegeben hat. Mit ihm hatten wir bereits schon während eines Aufenthaltes in Sorrent einige Versuche vorgenommen. Eier wurden in einem Uhrschälchen mit Meerwasser unter einer Glasglocke während fünf bis zehn oder fünfzehn Minuten der Einwirkung von Chloroformdämpfen ausgesetzt, befruchtet und darauf aus dem nach Chloroform riechenden Wasser in reines Meerwasser übertragen. Bei geringeren Graden der Chloroformwirkung hob sich von den Eiern die Dotterhaut ab, doch waren gewöhnlich zahlreichere Samenfäden eingedrungen, die im Dotter Strahlung hervorriefen und dadurch kenntlich wurden. Bei etwas stärkerer Chloroformierung war die Polyspermie eine beträchtlichere. Nach einiger Zeit hatte sich der Eikern oft bedeutend vergrößert, wie es auch bei längerer Chloralwirkung der Fall war, und waren die Spermakerne zu ziemlich großen oberflächlich gelegenen Bläschen geworden. Wenn die Chloroformwirkung zu stark war bei Anwendung während 15 bis 20 Minuten, starben die Eier

ab, wobei das Protoplasma eine eigenthümliche, glasige Beschaffenheit annahm. Bei Eiern, die im Stadium des Absterbens waren, haben wir bei Zusatz der Samenflüssigkeit oftmals eine nicht uninteressante Erscheinung beobachtet. Sie reagierten noch auf den Zusatz des Samens, indem sich die Eihaut abhob; alsbald aber begann der Dotter seine Beschaffenheit zu verändern, sich in einen Haufen von größeren und kleineren Kügelchen umzuwandeln und so zu zerfallen. Durch die Abhebung der Membran war der Prozeß des Absterbens unmittelbar veranlaßt worden.

In Nervi wollten wir die Versuche wieder aufnehmen, unterließen es aber bald, weil das Chloroform in seiner Handhabung weniger bequem und in seiner Wirkung weniger gleichmäßig war als Chloral, Nicotin und mehrere andere Mittel. Hierbei wurden wir aber auf eine neue Erscheinung aufmerksam gemacht. Wir suchten die Eier mit Chloroformwasser anstatt durch Dämpfe zu narcotisieren. Zu dem Zwecke schüttelten wir Meerwasser mit Chloroform, ließen sich das schwerere Chloroform absetzen und gossen nach mehreren Stunden die darüber stehende Flüssigkeit ab. Wenn nun Eier in diese gebracht wurden, so hob sich eine Membran augenblicklich vom Dotter weit ab, der sonst seine normale Beschaffenheit beibehielt. Wahrscheinlich wird diese Erscheinung dadurch veranlaßt, daß die im Wasser fein verteilten Chloroformteilchen, wenn sie mit der Oberfläche des Protoplasma in Berührung kommen, momentan einen heftigen Reiz auf dieselbe ausüben, ohne ein Absterben zu veranlassen, da sie nur einzelne Punkte treffen. Die anderen Mittel wirken als Lösung auf die ganze Oberfläche gleichmäßig und allmählich ein, da sie nur in starker Verdünnung angewandt werden können. Bei stärkerer Concentration töten sie sofort ab. Das angeführte Experiment ist deswegen von Interesse, weil es lehrt, daß eine Abhebung von einer Membran nicht bloß durch den normalen physiologischen Reiz eines befruchtenden Samenfadens, sondern auch durch passende chemische Reize hervorgerufen werden kann.

Weiter versuchten wir die mit Chloroformwasser behandelten Eier, bei welchen die Membran abgehoben war, durch Znsatz von Samen zu befruchten. Ein Erfolg trat nirgends ein. Kein Samenfaden drang in den Dotter ein. Aus dieser Thatsache läßt sich der Schluß ziehen, daß die Membran, wenn einmal abgehoben, dem Eindringen der Samenfäden ein Hindernis entgegensetzt.

6. Beeinflussung der Eier durch Cocain.

Da in den letzten Jahren das Cocain von den Pharmakologen und Ärzten als ein in hohem Grade betäubendes und die Nervenerregbarkeit herabsetzendes Alkaloid erkannt worden ist, hatten wir dasselbe, besonders durch Herrn Professor Binz veranlaßt, auch in das Auge gefaßt und verwandten es zu unseren Experimenten in Lösungen von 0,025, 0,05 und 0,1 %. Vom Chloralhydrat war es in seiner Wirkung etwas verschieden.

1) Lösung von 0,025 % Cocain.

Am 11. April wurde eine Partie Eier von 3 Uhr 20 Min. bis 3 Uhr 25 Min., eine andere Partie 15 Minuten lang in die Cocainlösung gebracht. Im ersteren Falle hob sich die Eihaut sofort ab, mehrfach ließ sich Überfruchtung konstatieren, indem hie und da 2 bis 4 Befruchtungshügel bei der Durchmusterung mit starker Vergrößerung nachzuweisen waren. In den meisten Eiern waren um 5 Uhr mehr als 4 Strahlungen, zuweilen deren 8 bis 10 vorhanden, und so erfolgte denn auch später nur in einer geringen Anzahl von Fällen reguläre Zweiteilung, meist aber Knospung in mehr als 4 Stücke.

Im zweiten Falle, bei der Einwirkung von 15 Minuten, wurde die Eihaut nur wenig und in Falten abgehoben (Tafel II, Fig. 11) und zwar zuerst und am meisten an denjenigen Stellen, an welchen sich ein Samenfaden eingebohrt hatte. In Folge der Polyspermie kam es später zu unregelmäßiger Knospenbildung.

Lösung von 0,05 % Cocain.

Nach Einwirkung von nur 5 Minuten drangen in die meisten Eier unter Abhebung der Eihaut 2, 3 und mehr Samenfäden ein. Nach kurzer Zeit wurde um die Spermakerne auch deutlich ausgeprägte Strahlung sichtbar. Schon um 3 Uhr 45 Min. trat Zellvermehrung ein. Nur wenige Zwei- und Vierteilungen wurden bemerkt, das gewöhnliche war Knospung in 5, 6 (Tafel II, Fig. 23), 8 und mehr Stücke. Der weitere Verlauf der Entwicklung gestaltete sich nicht ungünstig. Denn nach 2 Tagen waren Blastulae mit oft reichlicher Gallertausscheidung entstanden, zum Teil waren sie auch in Umwandlung zu Gastrulae begriffen. Am fünften Tage hatte die Gallertausscheidung bei vielen noch zugenommen. Die weitere Entwicklung wurde nicht verfolgt.

Lösung von 0,1 % Cocain.

Als Eier 10 Minuten (Mittwoch, 8. April, 4 Uhr 5 bis 4 Uhr 15 Min.) in der Lösung geblieben waren, hob sich die Eihaut beim Samenzusatz noch ab und es trat unter Bildung mehrerer Befruchtungshügel Polyspermie ein, die nach einer Viertelstunde sich am leichtesten konstatieren ließ, da viele deutliche Strahlungen um die Spermakerne entstanden waren. Um 6½ Uhr begann der größte Teil der Eier Knospen zu treiben, während nur einzelne sich in zwei oder gleich in vier Stücke teilten.

Bei Einwirkung der Lösung während 15 Minuten wurde die Eihaut infolge der Befruchtnng schwach oder gar nicht abgehoben. Die Polyspermie führte nach derselben Zeit wie oben zur Vielknospung.

An diesen 2 Zuchten wurde die Entwicklung eine Woche lang verfolgt. Am Ende derselben standen die meisten Larven noch auf dem Blastulastadium mit mehr oder minder reichlicher Gallertausscheidung.

7. Beeinflussung der Eier durch Chinium sulfuricum.

Es ist bekannt, daß Chinin auf niedere Organismen in viel höherem Grade giftig wirkt, als auf höhere Thiere und daß schon eine dünne Lösung von 0,02 % Infusorien z. B. rasch abtötet. Desgleichen ist nach den Untersuchungen von Binz Chinin ein sehr starkes Gift für Lymphkörperchen. Auch auf die Eizellen wirken schon schwache Lösungen von 0,005 % giftig ein und rufen, wenn auch nicht den sofortigen Tod, so doch Störungen in dem Entwicklungsprozeß hervor. Die Experimente wurden mit einer Lösung von 0,05 und mit einer Lösung von 0,005 % angestellt.

1) Lösung von 0,05 % Chinium sulfuricum.

Am Freitag den 3. April wurden Eier in die Chininlösung gebracht und teils nach 5 Minuten, teils nach 10 oder 15 oder 20 Minuten herausgenommen und befruchtet.

a) Befruchtung nach 5 Minuten.

Überall hebt sich in normaler Weise die Eihaut ab. Meistenteils war die Befruchtung eine einfache; in einen kleineren Teil der Eier waren 2 und mehr Samenfäden eingedrungen. Nach 1½ Stunden sah man daher hauptsächlich Amphiaster in den Eiern entwickelt,

zwischen ihnen noch ziemlich zahlreiche Tetraster und ab und zu auch Eier mit 5 und mehr Strahlungen. Am folgenden Tage zeigte sich an vielen Objekten keine nachträgliche Schädigung durch Chinin. Es waren viele typische, im Wasser flimmernde Blastulae mit Gallertkern und eingewanderten Mesenchymzellen entstanden, doch fanden sich auch auf dem Boden des Uhrgläschens eine Anzahl pathologischer, von Überfruchtung herrührender Blastulae.

b) Befruchtung nach 10 Minuten.

Bald war die Eihaut vollständig, bald nur wenig und in einzelnen Fällen gar nicht abgehoben. Mit wenigen Ausnahmen war jetzt Polyspermie eingetreten. $1\frac{3}{4}$ Stunden nach der Befruchtung sah man daher in den Eiern teils mehr als 2, teils sehr viele Strahlungen. Nicht selten waren derartige Befunde, daß etwas excentrisch im Dotter der Eikern mit 3 bis 4 Strahlungen an seiner Oberfläche lag und außerdem noch in der Dotterrinde zahlreiche isolierte, von Strahlung umgebene Spermakerne vorkamen, welche sich vergrößert und bläschenförmige Beschaffenheit angenommen hatten. Die aus dieser Befruchtung am folgenden Tage entstandenen Blastulae waren pathologisch, insofern sich in ihrem Innern glänzende Körner etc. angesammelt hatten und zuweilen auch ihrer Oberfläche einzelne Körner oder abgelöste Zellen anhingen.

c) Befruchtung nach 15 Minuten.

Bei der Mehrzahl der Eier hob sich die Dotterhaut nicht mehr ab, und in den wenigen Fällen, wo es geschah, nur schwach. Es erfolgte hochgradige Polyspermie. Nach einiger Zeit sah man gewöhnlich den Eikern in nicht unerheblicher Weise vergrößert und von mehreren Strahlungen umgeben, außerdem noch 4 bis 8 isolierte Strahlungen, von denen eine jede einen Spermakern umschloß, welcher durch Aufnahme von Flüssigkeit bläschenförmige Beschaffenheit angenommen hatte.

d) Befruchtung nach 20 Minuten.

Nirgends entwickelte sich jetzt bei der Befruchtung eine abstehende Eihülle. Nach 3 Stunden wieder untersucht waren viele Eier mit deutlichen Spermastrahlungen (Taf. II, Fig. 5) ganz dicht erfüllt, worauf es, allerdings zu sehr verschiedenen Zeiten, zur Knospung kam. Je später dieselbe eintrat, in welchem Falle wohl die Chininwirkung am intensivsten gewesen war, um so mehr wurden die absonderlichsten Figuren hervorgerufen (Taf. II, Fig. 4),

Die von vielen Kernen durchsetzten Eier streckten sich und nahmen die Form von unregelmäßigen Knollen an, die mit kleineren und größeren Höckern, in denen ein oder 2 Kerne lagen, bedeckt waren. Manche Höcker hingen mit der Hauptmasse nur durch einen dünnen Stiel zusammen. Am folgenden Tag waren die meisten Eier zerfallen, wenige hatten sich zu hochgradig pathologisch veränderten Blastulae weiter entwickelt.

2) Lösung von 0,005% Chinium sulfuricum.

Wenn dieselbe nur während 5 Minuten einwirkte, entstanden nach zwei Stunden hauptsächlich normale Zweiteilungen, eine ziemlich beträchtliche Menge von Vierteilungen (wir schätzten dieselben etwa auf 10%) und eine kleine Anzahl von unregelmäßigen Formen. Bei Einwirkung während einer halben Stunde beobachteten wir nur wenig Zweiteilungen, dagegen die Anzahl der Vierteilungen und der in Knospung begriffenen Eier vermehrt. An den folgenden Tagen entwickelten sich in den Zuchtgläsern aus diesem Material noch normale Blastulae und Gastrulae neben pathologischen Formen, denen abgelöste Zellen oberflächlich anklebten, oder deren Inneres mit Körnermaterial erfüllt war. Manche davon hatten durch einen Riß in der Zellenmembran die Körnermasse ausgeworfen und sich so in flimmernde unregelmäßige Zellscheiben umgestaltet.

Bei Eiern, welche 1 Stunde 15 Minuten in der schwachen Chininlösung gelegen hatten, wurde die Dotterhaut bei der Befruchtung immer noch abgehoben, doch erfolgte jetzt überall Polyspermie und Vielstrahlung. Die meisten so entstehenden Blastulae waren hochgradig verändert. Nach 6stündigem Aufenthalt in der Lösung fand sich kein einziges Ei mehr mit abstehender Dotterhaut. Nur in wenigen Eiern wurden später mehrfache Strahlungen beobachtet, in die übrigen war entweder kein Samenfaden eingedrungen oder er hatte, wenn es der Fall war, keine Reaktion mehr von Seiten des Dotters bewirkt. Am andern Tage war auch keine Zerklüftung eingetreten.

b. Beeinflussung der Samenfäden durch chemische Agentien vor der Befruchtung.

Um einen klaren Einblick in die Art und Weise, wie der Befruchtungsvorgang durch chemische Stoffe beeinflußt werden kann, zu gewinnen, mußten noch Versuche in Bezug auf die Samenfäden

vorgenommen werden. Wir haben daher dieselben, ehe sie zur Befruchtung verwandt wurden, der Einwirkung von verschiedenen Mitteln, wie Nicotin, Chloralhydrat, Strychnin, Chinin, Morphium ausgesetzt. Um die Wirkung zu beurteilen, hat man bei den Spermatozoen ein gutes Zeichen daran, ob die Bewegung des contraktilen Fadens verändert wird.

1. Beeinflussung der Samenfäden durch Nicotin.

Da bei Anwendung der schwachen Nicotinlösung, welche sich bei den Eiern schon so wirksam erwies, die Spermatozoen nicht zu reagieren schienen, wurde gleich mit einer 10 mal stärkeren Lösung, in welcher Eier bald absterben, experimentiert. Hierbei ergab sich eine große Widerstandsfähigkeit der Samenfäden gegen dies Mittel. Denn selbst Sperma, welches in die stark nach Nicotin riechende Lösung um 11 Uhr 25 Min. gebracht worden war, zeigte um 11 Uhr 40 Min. die lebhafteste tumultuarische Bewegung. Auch um 12 Uhr schien dieselbe nicht an Intensität verloren zu haben. Die Befruchtungsfähigkeit war noch eine vollständige. Um 1 Uhr bewegten sich die Samenfäden noch durcheinander, hatten aber in ihrer Fähigkeit zu befruchten etwas gelitten, doch nur in einer vorübergehenden Weise. Als nämlich Sperma zu Eiern, die sich in frischem Meerwasser befanden, zugesetzt wurde, schien in der ersten Zeit keine Befruchtung einzutreten, indem zwar die Samenfäden sich an die Oberfläche der Eier ansetzten, aber nicht eindrangen, wie denn auch die Abhebung der Eihaut nicht erfolgte. Nach zehn Minuten indessen mußte durch die Wirkung des reinen Meerwassers die Schädigung durch Nicotin beseitigt sein, da sich jetzt die Eihaut fast überall abhob. Um 1 Uhr 45 Min. war das gesamte Eimaterial vollständig und in normaler Weise befruchtet. Die Entwicklung ließ keine Störung erkennen; um 3 Uhr 25 Min. erfolgte überall die Zweiteilung.

2. Beeinflussung der Samenfäden durch Chloralhydrat.

In einer viel energischeren Weise, als das Nicotin, wirkt Chloralhydrat ein. Als in eine 0,5 % Lösung um 10 Uhr 10 Min. Sperma gebracht wurde, war die Bewegung schon nach 5 Minuten aufgehoben. Dieselbe kehrte jetzt indessen sehr rasch und lebhaft wieder, wenn reines Meerwasser zugesetzt wurde. Auch befruchteten die durch den vorübergehenden Aufenthalt in 0,5 % Chloral gelähmten Samenfäden, wenn sie zu Eiern zugefügt wurden, fast

ebenso bald als frischer Samen, wegen der in frischem Wasser rasch erfolgenden Beseitigung der Chloralwirkung.

Bei längerer Chloralwirkung wurde die hervorgerufene Lähmung eine stärkere und hielt längere Zeit auch nach Entfernung des schädigenden Mittels an. Sperma, welches um 10 Uhr 40 Min. (nach einer halben Stunde) aus der Chlorallösung herausgenommen wurde, blieb auch in reinem Wasser noch mehrere Minuten unbeweglich. Erst allmählich begann bei einzelnen Spermatozoen die schlängelnde Bewegung des Fadens und wurde dann rasch eine recht lebhafte. Auch die befruchtende Wirkung war jetzt für längere Zeit als bei der Einwirkung von 5 Minuten aufgehoben. Als um 10 Uhr 45 Min. Sperma, das 35 Minuten in der Chloralmischung war, zu Eiern hinzugefügt wurde, war selbst nach 10 Minuten (10 Uhr 55 Min.) bei keinem Ei die Dotterhaut abgehoben; es war mithin keine Befruchtung erfolgt, obwohl sich schon viele Spermatozoen wieder berwegten, auch den Eiern aufsaßen und besondere Bewegungen ausführten. Doch trat später noch überall Befruchtung ein. Als um 11 Uhr 20 Min. das Versuchsmaterial wieder kontroliert wurde, zeigte sich die Dotterhaut fast bei allen Eiern abgehoben und war Strahlung im Ei sichtbar. Relativ wenige Eier waren noch unbefruchtet. Um 1 Uhr begann sich das Material zu teilen, wobei ganz vereinzelte Vierteilungen sichtbar wurden. In Bezug auf letztere wird man aber wohl annehmen müssen, daß die abweichende Teilungsform durch eine Schädigung des Eies bedingt gewesen ist.

3. Beeinflussung der Samenfäden durch Chinin.

Wie Chloralhydrat, so wirkt auch Chinin in sehr intensiver Weise auf die Spermatozoen ein. Wir wandten die 0,05 % Lösung an, welche wir auch bei der Untersuchung der Eier benutzt hatten. Dieselbe hatte schon nach 5 Minuten eine erhebliche Verlangsamung der Bewegung der Samenfäden zur Folge; proportional der Einwirkungsdauer des Reagens wurden die Bewegungen schwächer, bis sie nach 35 Minuten vollkommen aufhörten. Eine um diese Zeit vorgenommene Befruchtung war anfangs gänzlich resultatlos. Da aber hierbei die Spermatozoen aus der Chininlösung in frisches Wasser gebracht worden waren, lebten sie allmählich wieder auf; 10 Minuten nach dem durch die Befruchtung herbeigeführten Wasserwechsel waren sie noch gänzlich unbeweglich, nach weiteren 20 Minuten fingen sie an, schwache Bewegungen zu zeigen; auch traten hie und da vereinzelte Befruchtungen ein; immerhin waren auch

um 12 Uhr noch die meisten Eier unbefruchtet und erst um 1 Uhr war die Gesamtheit der Eier successive befruchtet. Ob stärkere Lösungen des Chinins dauernd die Lebensthätigkeit der Spermatozoen vernichten, haben wir nicht untersucht.

4. Beeinflussung der Spermatozoen durch Strychnin.

Wenn man Sperma in 0,01 % Strychnin überträgt, so leidet dasselbe anfänglich gar nicht. Nach 3 Stunden verlangsamte sich die Bewegung etwas, doch fällt diese Erscheinung nicht sehr in die Wagschale, da Sperma, welches längere Zeit im reinen Meerwasser gelegen hat, ebenfalls eine Einbuße an Lebensenergie erfährt. Wichtig ist, daß diese schwach beweglichen Spermatozoen immer noch vollkommene Befruchtung der Eier bewirkten. Die so befruchteten Eier entwickelten sich fast sämtlich normal weiter; wenn hier und da direkte Vierteilungen auftraten, so läßt sich das wohl schwerlich als Folge der Reagentienbehandlung, welche die Spermatozoen erfahren haben, betrachten.

5. Beeinflussung der Spermatozoen durch Morphium.

Morphium scheint auf die Spermatozoen ohne jeden Einfluß zu sein. Noch nach mehr als 1 Stunde lebten sie in einer 0,5 % Lösung unverändert weiter. Eine nach $\frac{3}{4}$ stündiger Einwirkungsdauer vorgenommene Befruchtung ergab eine normale Entwicklung; nur äußerst spärlich führte sie zu Vierteilungen.

II. Abschnitt.

Über den Einflufs von chemischen Agentien auf den Verlauf der Befruchtung.

Sowie bei normaler Befruchtung das Spermatozoon in das Innere der Eizelle eingedrungen ist, spielen sich daselbst eine Reihe von Vorgängen ab, welche für das Verständnis der Befruchtung wichtiger sind als alle vorangegangenen Erscheinungen. Der Kern des Spermatozoons und der Kern der Eizelle, Spermakern und Eikern, anfänglich weit voneinander getrennt, kommen einander immer näher und verschmelzen schließlich im Centrum des Eies zum Furchungskern. Beim Seeigelei dauert der gesamte

Prozeß etwa eine Viertelstunde, bei einigen Eiern etwas weniger, bei anderen etwas mehr, je nachdem der Ort, wo das Spermatozoon eingedrungen ist, dem Eikern mehr entfernt oder genähert liegt.

Darin, daß 2 kleine Körper in einer relativ ansehnlichen Substanzmasse stets einander finden und noch dazu in einer so kurzen Zeit, spricht sich eine wunderbare Gesetzmäßigkeit aus; es müssen in den für den Befruchtungsakt wichtigen Teilen bestimmte Kräfte wirksam sein, welche diese Gesetzmäßigkeit garantieren, deren Ermittelung nur auf experimentellem Weg herbeigeführt werden kann. Von vornherein sind drei Möglichkeiten gegeben: 1) Die Geschlechtskerne sind allein Sitz der regulatorischen Kräfte, indem sie aktiv, vermöge ihrer sexuellen Differenz, aufeinander zuwandern. 2) Die Kerne werden passiv von dem Protoplasma bewegt; die durch Aufnahme des Spermakerns ausgelösten Kontraktionen desselben treiben beide Kerne im Centrum einander zu. 3) Kerne und Protoplasma sind beide beteiligt, letzteres ist zwar vorwiegend in Aktivität, indessen besitzen die an und für sich passiv bewegten Kerne einen bestimmenden Einfluß auf die Art der Plasmakontraktionen.

Um die hier aufgeworfenen Fragen, wenn auch nicht zu entscheiden, so doch der Entscheidung näher zu führen, haben wir versucht, durch chemische Einwirkungen die inneren Befruchtungsvorgänge monospermer Eier abzuändern. Es galt uns dabei noch über einen zweiten Punkt Gewißheit zu erlangen, ob es nämlich möglich ist, die Vereinigung der Geschlechtskerne und damit den wichtigsten Teil der Befruchtungsvorgänge zu verhindern. Im bejahenden Fall mußte es von Interesse sein zu verfolgen, was dann aus den Kernen und den Eiern wird, welchen die normale Erledigung ihrer Functionen unmöglich gemacht worden war.

Zwei Umstände lenkten unsere Aufmerksamkeit auf die Anwendung bestimmter Reagentien, des Chinins und des Chlorals; einmal hatten wir bei den Untersuchungen über die durch Reagentien veranlaßten abnormen Furchungsvorgänge und polysperme Befruchtungen wahrgenommen, daß beide Substanzen in hohem Grade die Strahlungserscheinungen im Protoplasma herabsetzen, zweitens war für uns die Thatsache bestimmend, daß die Strahlung um den Spermakern bei den inneren Befruchtungserscheinungen so sehr in den Vordergrund tritt.

Wir haben nun mit der von uns am meisten benutzten 0,5% Chlorallösung in folgender Weise experimentiert. Eine größere Menge frischer Eier wurde befruchtet; davon wurde die erste

Partie nach einer Minute herausgenommen und auf 10 Minuten in die Chlorallösung gebracht, eine zweite Partie wurde nach 1½ Minuten, eine dritte nach 5, eine vierte nach 15 Minuten in die Chlorallösung übertragen, um daselbst ebenfalls 10 Minuten zu verbleiben. Nur die letzte Partie wurde über 10 Minuten, fast eine Viertelstunde lang im Chloral belassen. Wie auch sonst, wurde nach der Behandlung das Reagens durch wiederholte Erneuerung des Seewassers möglichst vollständig entfernt.

Da die einzelnen Serien zu sehr verschiedenartigen Resultaten geführt haben, werden wir den Entwicklungsgang einer jeden getrennt schildern.

1. Versuch. Vornahme der Chloralbehandlung 1 Minute nach Besamung der Eier.

Die Eier wurden früh 9 Uhr 50 Min. befruchtet, nach einer Minute in Chloral übertragen und eine kleine Anzahl sofort untersucht. Die Eimembran war überall abgehoben, dagegen keine Strahlung zu sehen, auch entwickelte sich dieselbe nicht in der Folgezeit; sämmtliche außerhalb des Eies und in den Eihüllen befindlichen Spermatozoen waren vollkommen bewegungslos. Auch als nach 10 Minuten das Chloral ausgewaschen wurde, trat lange Zeit über keine Strahlung auf.

Die ersten Eier wurden zur nachträglichen Untersuchung 10 Uhr 20 Min., also ½ Stunde nach vorgenommener Besamung in Picrinessigsäure eingelegt. Im frischen Zustand erschienen sie, wenn wir von der Eimembran absehen, wie unbefruchtete Eier, indem sie nur den Eikern erkennen ließen. Nach der Behandlung mit Picrinessigsäure und der Färbung in Boraxkarmin trat dazu noch der Spermakern hervor, als ein ganz oberflächlich gelegener roter kleiner Körper, der nur wenig größer war als der Kopf eines Spermatozoons und sich außerdem von diesem dadurch unterschied, daß er kugelig sich abgerundet hatte (Tafel III, Fig. 14). Im Umkreis des Spermakerns war weder eine Anhäufung homogenen Protoplasmas, noch auch die geringste Spur von Strahlung zu bemerken. Der Eikern hatte seine normale bläschenförmige Gestalt verloren und hatte ein geschrumpftes Aussehen, als ob Flüssigkeit aus ihm ausgetreten wäre. Seine Kontur war zwar scharf gezeichnet, aber unregelmäßig ausgebuchtet; seine Lage war excentrisch mehr oder minder der Oberfläche genähert, bald in der Nachbarschaft des Spermakerns, bald weit von ihm entfernt.

Offenbar hatte somit die Befruchtung seit der Einlage in Chloral auch nicht den geringsten Fortschritt gemacht.

Für die richtige Beurteilung der späteren Studien ist es wichtig festzustellen, ob und wie viel Eier von mehr als einem Spermatozoon befruchtet worden sind; wir haben daher etwa 200 Eier genau durchgeprüft und kein einziges doppelt befruchtetes vorgefunden. An einigen wenigen konnten wir überhaupt den Spermakern nicht finden. Bei seiner oberflächlichen Lage ist er überhaupt um diese Zeit schwieriger nachzuweisen als auf späteren Stadien. So wäre es denn möglich, daß einige wenige disperme Eier vorhanden gewesen, aber nicht zur Beobachtung gekommen sind, weil der zweite Spermakern in Folge ungünstiger Lagerung übersehen wurde.

Während bei der Untersuchung im frischen Zustand die Eier um 10 Uhr 45 Min. (fast eine Stunde nach der Besamung) keine Veränderung aufwiesen, konnten solche an dem in Reagentien konservierten Material deutlich wahrgenommen werden (Taf. III, Fig. 15). Die Spermakerne waren größer geworden; die homogene Beschaffenheit hatte einem fein gekörnelten Ansehen Platz gemacht; ferner machte sich zum Teil wenigstens ein heller Hof im Umkreis bemerkbar, als ob sich eine geringe Spur Flüssigkeit zwischen Kern und Protoplasma angesammelt hätte. Unter etwa 60 Eizellen fanden sich 2 doppelt befruchtete, beidesmal war der eine Spermakern etwas kleiner als der andere. Der Eikern hatte sich nicht verändert, auch das gegenseitige Lageverhältnis beider Kerne war das nämliche geblieben.

Während der folgenden halben Stunde machen die Veränderungen des Spermakerns nach der soeben besprochenen Richtung weitere Fortschritte. Namentlich wird die Flüssigkeitsansammlung im Umkreis eine bedeutendere, so daß er schon im lebenden Ei 11 Uhr 20 Min. ($1\frac{1}{2}$ Stunden nach Befruchtung) als ein Bläschen auffällt, welches meist etwa halb so groß ist wie der Eikern. In einigen Fällen ist der Durchmesser geringer, in anderen Fällen wieder größer, je nachdem die Veränderungen einen langsameren oder rascheren Fortgang genommen haben (Tafel III, Fig. 16). Bei Reagentienbehandlung gleicht der Spermakern den Kernen, wie sie ab und zu bei Rhizopoden vorgefunden werden, z. B. bei Arcella vulgaris, er ist ein Bläschen mit einfachem, rundem Nucleolus geworden, nur mit dem Unterschied, daß letzterer, der eigentliche Spermakern, deutlich und gleichmäßig granuliert ist. Das gekörnelte Aussehen ist nun sehr wahrscheinlich nur der Ausdruck

einer netzförmigen oder fadenförmigen Struktur, wie sie in der Neuzeit wiederholt für das Innere von Kernen beschrieben worden ist, eine Annahme, zu welcher wir namentlich durch die Veränderungen auf späteren Stadien bestimmt werden.

Mit der Grössenzunahme hat die Intensität der Färbung abgenommen, als ob dasselbe Quantum färbbarer Substanz nun auf einen größeren Raum verteilt wäre. Immerhin ist der Körper noch intensiver gefärbt als das Protoplasma und die geformten Bestandteile des Eikerns.

Von Wichtigkeit sind feine Verbindungsfäden, welche zwischen dem nucleolusartigen Körper und dem umgebenden Protoplasma vorhanden sind und die Flüssigkeitsschicht durchsetzen. Hie und da treten solche Fäden vom Nucleolus herüber, stets äußerst zart und vollkommen farblos. Da sie infolgedessen schwierig zu erkennen sind, läßt sich über die Art ihrer Bildung nicht viel sagen; von Anfang scheint nur ein Faden da zu sein, mit Hilfe dessen der Spermakern an der Wandung seiner Kernblase befestigt ist, ähnlich einer gestielten Beere. Am schönsten haben wir den Faden bei dem Spermakern eines Eies gesehen, welches schon auf vorgerückterem Entwicklungsstadium stand. Wir erblicken in ihm dasselbe Element, welches wir früher einmal schon bei der normalen Befruchtung besprochen haben. Dort geht immer dem Spermakern die Strahlung voraus, sie schien um das Ende eines homogenen farblosen Fortsatzes gruppiert zu sein, welcher von der in Karmin rotgefärbten Hauptmasse des Kerns entspringt.

Damals sprachen wir uns schon für die Ansicht aus, daß im Spermakern 2 Substanzen seien, eine farblose schwierig nachweisbare und eine in Karmin stark sich imbibierende. In dieser Ansicht sind wir durch obige Befunde weiterhin bestärkt worden, noch mehr freilich durch eine Reihe anderer Beobachtungen, auf welche wir bei der Besprechung der späteren Stadien und der folgenden Serien noch einmal zurückkommen werden.

Der Eikern hat inzwischen wieder die Gestalt eines prall gefüllten Bläschens angenommen. Das Kerngerüst, eine farblose, feinkörnige, in Fäden angeordnete Masse, ist dadurch wieder deutlicher geworden; in ihm liegt fast stets ein homogener rundlicher Körper, ein aus achromatischer Substanz bestehender Nucleolus. Die Kontur ist fast in allen Fällen scharf gezeichnet. Von Ei zu Ei verglichen zeigen die Kerne verschiedene Durchmesser, einige sind nicht unerheblich größer als im reifen unbefruchteten Ei, so daß man den Eindruck gewinnt, als wäre die Menge des Kernsafts, nachdem

sie vorübergehend eine Verminderung erfahren hatte, wieder gewachsen.

Die Veränderungen des Eikerns sind bis zu einem gewissen Grad unabhängig von den Veränderungen des Spermakerns. Ersterer kann in seiner Entwicklung zurück sein, wenn der zugehörige Spermakern schon namhafte Fortschritte gemacht hat, und umgekehrt. Auch das Lageverhältniss beider Teile hat keinen Einfluß. Ob sie sich dicht bei einander befinden oder weit getrennt sind, ist für das Maß der inneren Umwandlungen bedeutungslos.

Schließlich sind noch einige Ausnahmen zu verzeichnen. Aeußerst selten sind die Fälle, wo Ei und Spermakern einander getroffen haben und zur Verschmelzung dicht aneinander gefügt sind, weniger selten sind andere Fälle, wo der Eikern anfängt, seine Membran zu verlieren, und wo im Kerngerüst die ersten chromatischen Körnchen sichtbar werden.

Die Zahl der Doppelbefruchtungen wurde an mehreren Präparaten bestimmt. In einem derselben waren etwa 60 Eizellen vorhanden, davon vier doppelt befruchtet, in den anderen war etwa das gleiche Verhältnis. Bei den dispermen Eizellen hatten meistens die zwei Spermakerne gleiches Aussehen.

Die bisher beschriebenen Veränderungen der beiden Kerne sind nicht sehr auffälliger Natur, indem selbst die bläschenförmige Umbildung des Spermakerns wenigstens ein Analogon findet bei den Eiern, welche noch vor der Bildung der Richtungskörper befruchtet werden. Von jetzt ab werden wir uns mit höchst überraschenden und interessanten Metamorphosen zu beschäftigen haben, welche nur schwierig und unter Anwendung von Reagentien zu erkennen sind.

Um 12 Uhr hatte die Untersuchung im frischen Zustand ergeben, daß bei den meisten Eiern kein Kern gesehen werden konnte und nur noch bei wenigen die beschriebenen zwei Kernbläschen erhalten waren. Auch die Anwendung von Pikrinsäure genügte vielfach zum Kernnachweis nicht, oder es wurden zwei getrennte undeutliche Kerne sichtbar oder zwei Kerne in Kopulation. Strahlung war nicht zu erkennen. Wir ließen die im Gange befindlichen Umwandlungen etwas weiter gedeihen und töteten um 12 Uhr 20 Min. eine größere Portion ab. Diese gefärbt und in Nelkenöl untersucht ergab eine Fülle verschiedener Bilder, welche sich aber, wie aus dem folgenden hervorgehen wird, zum größten Teil mit Leichtigkeit als verschiedene Stadien einer Umbildungsreihe deuten lassen. Wie es auch sonst zu sein pflegt und auch für die folgenden Se-

rien berücksichtigt werden muß, sind durch die Reagentienbehandlung die einzelnen Eier verschieden betroffen, so daß die einen sich rascher, die anderen langsamer entwickeln. Bei der Schilderung werden wir Ei- und Spermakern getrennt besprechen und mit ersterem beginnen, da er früher als der Spermakern der Metamorphose unterliegt und schon chromatische Schlingen erkennen läßt, wo dieser noch Bläschenform bewahrt.

Die erste Veränderung des Eikerns ist das Aufhören einer scharfen Umgrenzung und seine Reduktion in einen Körnerhaufen, der zum Theil achromatisch, zum Teil chromatisch ist. Die chromatische Substanz ist dabei in feinen Fäden angeordnet, welche nach Art der Fadenschlingen bei Kernteilung nicht selten U-förmig gebogen oder auch schwach geschlängelt sind.

Eine zweite Kernform wollen wir im folgenden die Fächerform nennen. Mit ihr beginnt die Umwandlung der achromatischen Substanz in feine Fäden, eine Anordnung, welche sich während der folgenden Stadien konstant erhält. Die Fäden, im wesentlichen alle untereinander von gleicher Größe, strahlen von einem Punkt nach einer Seite aus und bilden so ein Büschel, welches je nach der größeren oder geringeren Divergenz der Elemente die Gestalt einer Halbkugel oder eines Kegels annimmt; im Flächenbild gleicht das Ganze einem Fächer, welcher teilweise oder ganz ausgebreitet ist und in dem die einzelnen Spangen den Kernfäden entsprechen würden (cfr. auch Tafel V, Fig. 17—19, welche einer anderen Serie entnommen sind). Von einem seiner Enden aus gesehen zeigt der Kern ein strahliges Gefüge; bei einer bestimmten Einstellung des Mikroskops sieht man einen Stern achromatischer Fäden; verändert man ein wenig die Einstellung, dann tauchen je nach der Seite, von welcher man auf den Kern sieht, höher oder tiefer die chromatischen Schleifen und Körner auf (Tafel III, Fig. 17) in Form einer Anhäufung, die eine rundliche, gegen die Umgebung aber nur undeutlich abgesetzte Figur bildet. Da das gleiche Bild, wenn auch weniger klar, bei halb seitlichen Ansichten zu Stande kommt, so begegnet man ihm viel häufiger als dem zuerst beschriebenen, welches aber für das Verständnis der Figur von größerer Bedeutung ist.

Die chromatischen Schlingen, welche nicht selten ganz kurz sind und dann wie Körner aussehen, scheinen in bestimmten Lagebeziehungen zu den achromatischen Fäden zu stehen, derart, daß jedem Faden ein chromatisches Element entspricht, welches meist dem Ende desselben wie ein Stecknadelkopf aufsitzt und nur

selten den mittleren Partien angefügt ist. Im ersteren Falle liegen die Fäden weiter auseinander, im letzteren sind sie mehr zusammengedrängt.

Der fächerförmige Eikern geht nunmehr in eine Form über, welche wir den Pseudotetraster nennen wollen. Der Pseudotetraster hat wie der ächte Tetraster vier Ecken, unterscheidet sich aber von ihm dadurch, daß die letzteren nicht durch Spindeln miteinander verbunden sind. Von jeder Ecke aus geht ein Bündel divergierender achromatischer Fasern in der Richtung nach der Mitte des Kernes zu. Die vier Bündel müssen somit zusammenstoßen und in der mittleren Kernpartie eine wirre Anordnung gewinnen, indem sie sich ineinanderschieben (Taf. III, Fig. 13).

Ein weiterer Unterschied zum normalen Tetraster ist in der Anordnung der Chromatinschlingen gegeben; diese sind ebenfalls etwas wirr durcheinander gewunden, so daß es nicht zur Bildung von vier Kernplatten kommt.

Hie und da haben wir nun Zwischenformen zwischen Fächerform und Pseudotetraster aufgefunden. Denselben zufolge scheint der Punkt, von welchem die achromatischen Fäden des Fächers ausstrahlen, einen Pol zu bilden; an der Peripherie der Fächerfigur treten dann neue Pole auf, an welchen die faserige Struktur zunächst noch undeutlich ist, gleichzeitig vollzieht sich eine Umgruppierung der Chromatinschlingen. Ein solches Zwischenstadium ist in Fig. 18, Tafel III abgebildet.

Im Protoplasma, welches den Eikern umgiebt, ist auf dem geschilderten Stadium Strahlung selten nachzuweisen; wir haben sie nur einige Male an den Ecken des Tetrasters ganz schwach entwickelt gesehen.

Wir kommen nun zu den Veränderungen des Spermakerns. Derselbe hat vielfach noch die Gestalt eines Rhizopodenkerns und ist ein Bläschen mit relativ großem Nucleolus; das schon früher hervorgehobene körnige Aussehen desselben ist deutlicher geworden und läßt sich jetzt darauf zurückführen, daß der Kern aus einem Faden besteht, welcher in vielfache Windungen gelegt ist. Namentlich lieferten für diese Ansicht Kerne, welche durch Zertrümmern des in Nelkenöl spröde gewordenen Dottermaterials isoliert und für sich dargestellt worden waren, hübsche Beweise. Der Kernfaden ragte hier eine ganze Strecke weit über die Oberfläche frei hervor und ließ sich auch in die Windungen des Knäuels hinein verfolgen (Tafel III, Fig. 20 u. 21). An den hervorragenden Stücken konnte man ferner eine Struktur erkennen, welche an den

Kernfaden in den Speichelzellen der Chironomus-Larven erinnert. Der Faden ist bei Anwendung eines engen Diaphragmas gekörnelt; benutzt man aber den Abbe'schen Beleuchtungsapparat und schaltet die Diaphragmen aus, so daß man vorwiegend ein Farbenbild erhält, so zeigt das Präparat einen Faden von roten aneinander gereihten Körnchen. Es ist daher außerordentlich wahrscheinlich, daß der Faden aus achromatischer Substanz besteht, in welche chromatische Körnchen in unregelmäßigen Abständen eingelagert sind. Sind die Windungen des Fadens noch mehr gelockert, so verliert sich das Bild eines Nucleolus und der Faden ist in der Kernblase in viele mäandrische Windungen gelegt, so daß das Lumen derselben nach allen Richtungen hin durchzogen wird.

An den Spermakernen ist häufig, wenn auch nicht immer gleich deutlich Strahlung zu erkennen; bei einigen geht dieselbe nur von einem Punkt aus; bei anderen hat sich zur ersten noch eine zweite gesellt, welche jener genau gegenübersteht; endlich giebt es auch bläschenförmige Kerne mit drei Strahlungen, wobei dann das dritte Attraktionscentrum von den ersten beiden nahezu gleich weit entfernt auf einer der freien Seiten liegt.

Meist haben sich nun, wenn die zweite und dritte Strahlung aufgetreten sind, Form und Struktur des Kerns verändert (Tafel III, Fig. 12, 18, 19). Den Strahlungen entsprechend ist er ausgezogen, zu einem Oval, wenn zwei Attraktionscentren vorhanden sind, zu einem Dreieck, wenn sich deren drei ausgebildet haben. Die Flüssigkeitsansammlung ist auch geringer geworden oder ganz geschwunden und es beginnt die Sonderung der chromatischen und achromatischen Teile, daran erkennbar, daß in einer undeutlich faserig körnigen, aber ungefärbten Masse intensiv rot gefärbte Körner oder gebogene Fäden sichtbar werden.

Wiederholt haben wir beobachtet, daß schon der dreistrahlige Kern deutlich faserig differenziert ist; die chromatischen Schlingen sind dann zu einem kleinen kugeligen Körper zusammengedrängt; von den drei Kernecken gehen farblose Fäden aus, welche divergieren und so drei kegelförmige Figuren erzeugen, welche mit der Basis dem Chromatinhaufen aufgesetzt sind.

Mit ziemlicher Sicherheit können wir weiter behaupten, daß der dreistrahlige Kern mit der Zeit zu einem vierstrahligen wird. Wir haben nämlich wiederholt dreistrahlige Kerne gefunden, bei denen ein viertes Attraktionscentrum schwach entwickelt war (Fig. 19). Dasselbe lag merkwürdiger Weise in einiger Entfernung vom Kern im Protoplasma. Es scheint somit von außen an ihn heranzutreten.

Die Entwicklung einer vierten Strahlung führt den Kern in eine weitere Form über, welche wir der Aehnlichkeit mit einem Ordensstern halber das Ordenssternstadium nennen wollen. Das Chromatin ist auch hier wieder zu einem gekörnelten kugeligen Haufen zusammengedrängt, auf demselben sitzen aber nunmehr vier faserig differenzierte achromatische Kegel auf, meist so angeordnet, daß sie gemeinsam ein Kreuz bilden. Meistens sind die einzelnen Kegel oder die Flügel des Kreuzes von ungleicher Länge, wodurch die Anordnung der Teile eine unregelmäßige wird. Die Figur ist deswegen von besonderem Interesse, weil wir sie auch bei den später zu besprechenden Versuchsreihen wieder gefunden haben.

Außer der soeben geschilderten scheint es noch eine zweite Art und Weise zu geben, in welcher der bläschenförmige Spermakern in die Ordenssternfigur übergeführt wird. Häufig hat der nucleolus-artige Körper seine homogene Beschaffenheit beibehalten oder ist nur schwach granuliert; im Farbenbild (Tafel III, Fig. $12a^1$) ist er intensiv gefärbt, zeigt aber 1, 2 oder 3 kleine Ausschnitte in seiner Peripherie, welche nichts anderes sind, als die basalen Enden von achromatischen Aufsätzen, welche in entsprechender Zahl vorkommen. Die achromatischen Aufsätze sind spitz zulaufende Kegel von verschiedener Gestalt, entweder kurz und breit, oder schmal und lang. Die Spitzen rühren an das die Kernvacuole umgebende Protoplasma (Fig. $12a^2$). Da die Substanz äußerst zart und durchsichtig ist, kann sie nur mit Anwendung der größten Sorgfalt wahrgenommen werden: man muß Oelimmersion bei vortrefflicher Beleuchtung und ein enges Diaphragma benutzen. Würde man annehmen, daß die homogenen Aufsätze sich in faserige Kegel verwandeln, so würde man ebenfalls eine Ordenssternfigur erhalten. Übergangsformen findet man genügend, wie die Figuren 12 b, c, d lehren.

Der Unterschied zwischen den beiden Arten der Umwandlung würde darin zu suchen sein, daß im ersten Fall sich die gesamte, aus achromatischen und chromatischen Teilen zusammengesetzte Substanz erst in einen Faden aufrollt und dann erst die Sonderung in achromatische Fäden und chromatische Körnchen erfolgt, während im zweiten Falle die Aufrollung des Fadens unterbleibt und die achromatischen Teile aus dem homogen bleibenden Nucleolus hervorwachsen. Die häufig zu beobachtende körnige Beschaffenheit des letzteren ist übrigens ein Beweis, daß zwischen beiden Arten der Umbildung keine scharfen Grenzen existieren.

Wir haben hier eine Anzahl von Formen geschildert, welche sich zwanglos in eine zusammenhängende Entwicklungsreihe einfügen lassen. Wir müssen aber dazu bemerken, daß sehr häufig auch undeutliche Bilder zur Beobachtung kommen, wo der Spermakern wie ein unregelmäßiger Haufen chromatischer und achromatischer Körnchen aussieht, daß ferner wir häufig uns vergeblich bemüht haben, an hochgradig differenzierten Kernen Strahlung zu erkennen. In solchen Fällen ist es schwer, Spermakern und Eikern zu unterscheiden und ferner schwer zu bestimmen, ob die Kernfiguren nicht gut genug conserviert sind, oder ob ein der Beobachtung ungünstiges Zwischenstadium vorliegt, oder ob der Kern hier einen anderen Weg der Differenzierung eingeschlagen hat. Jedenfalls handelte es sich aber auch hier um eine Umbildung des Kerns in einen faserigen Körper.

Zum Schluß der Besprechung des in Rede stehenden Entwicklungsstadiums sei noch hervorgehoben, daß man äußerst selten beide Kerne in Vereinigung findet. Wahrscheinlich waren hier dieselben gleich von Anfang an nur durch einen geringen Zwischenraum getrennt. Entweder sind die Kerne nur äusserlich aneinander gefügt oder vollkommen verschmolzen. In letzterem Fall entsteht ein Körper mit mehreren vorspringenden Ecken. Von den Ecken gehen achromatische Fasern aus; im Innern liegen unregelmäßig verteilte chromatische Schlingen.

Um 1 Uhr, somit 3 Stunden 10 Minuten nach der Befruchtung, wurde eine weitere Portion Eier abgetötet. Die Untersuchung im frischen Zustand hatte keinerlei Veränderungen im Aussehen der Eier ergeben, gleichwohl war fast überall eine Weiterentwicklung eingetreten, wie durch die Reagentienbehandlung erkannt wurde.

Sofern die Eier nicht infolge verlangsamter Entwicklung noch auf einem Stadium sich befanden, welches mit dem eben besprochenen identisch ist, war es nicht mehr möglich, Ei und Spermakern voneinander zu unterscheiden, da beide eine äußerst ähnliche Gestalt angenommen hatten. Beide waren etwas abgeplattet und hatten von der Fläche gesehen die Form eines ungleichseitigen Dreiecks mit abgerundeten Ecken. Jede Ecke war in einiger Entfernung umgeben von einem Kranz chromatischer Stäbchen, deren Anordnung man am besten überblickte, wenn der Kern gleichsam auf der Kante stand und man auf eine der Ecken von oben herab-

schaute (Tafel III, Fig. 22, Tafel IV, Fig. 1). Der Stäbchenkranz umgiebt eine helle kreisförmige oder elliptische Stelle; alle chromatischen Stäbchen sind so orientiert, daß sie mit dem einen Ende dem Mittelpunkt der hellen Stelle zu-, mit dem anderen von demselben abgewandt sind. Im Farbenbild liefern sie daher einen äußerst zierlichen rotgefärbten Stern. Von einem Stäbchenkranz zum anderen verlaufen feine achromatische Fäden den Rändern des Dreiecks parallel. Eine Ecke war reicher an chromatischen Stäbchen als die anderen, die vom Stäbchenkranz umgebene helle Stelle war langgestreckt, als ob sie sich in zwei Partien teilen wollte. In der That finden sich auch viereckige Figuren, bei denen zwei Ecken einander sehr genähert und nur durch ganz kurze achromatische Fäden verbunden sind. Wir glauben nun nicht, daß die eine dieser Figuren aus der anderen entstanden ist, sondern daß beides coordinierte Entwicklungsstadien sind, daß die Kerne die Tendenz haben, viereckige Figuren zu bilden, daß aber zwei Ecken einander meist genähert und zwar häufig bis zur Vereinigung genähert sind. Ungenügende Entwicklung einer der gleichsam im Entwicklungsplan vorgesehenen vier Ecken kann noch in anderer Weise bewirkt werden, wenn nämlich die achromatische Figur zwar ein ungleichseitiges Viereck ist, die vierte Ecke aber keine chromatischen Stäbchen enthält (Tafel III, Fig. 22).

Als Übergangsformen zu den soeben besprochenen Kernfiguren betrachten wir nun eine Reihe von Kernen, welche ein unregelmäßiges Ansehen haben und von denen man nur sagen kann, daß sie aus achromatischen Fasern und ungenügend orientierten chromatischen Stäbchen bestehen; anstatt einer Besprechung verweisen wir auf Figur 19.

Wesentlich häufiger als auf den früheren Stadien findet man beide Kerne vollkommen vereinigt. Die Figuren, welche in diesen Fällen entstehen, bilden ein vollkommenes Pendant zu dem, was wir von den getrennten Kernen schon kennen gelernt haben; ich schildere sie im Anschluß an einige Abbildungen und in der Reihenfolge, wie sie offenbar sich aneinander fügen.

In Figur 6b, Tafel IV sehen wir einen dreistrahligen Kern vor uns. Von drei Punkten ausstrahlend, treffen die achromatischen Fasern aufeinander längs dreier Linien, die durch die Lagerung der chromatischen Körnchen gekennzeichnet sind. Es kommt so zur Bildung einer in drei Schenkel ausgezogenen Mittelplatte, deren Deutlichkeit aber dadurch beeinträchtigt wird, daß hie und da noch chromatische Körner und Schleifen unregelmäßig zerstreut liegen.

Kerne mit endständigen Chromatinrosetten sind in Fig. 6a, Tafel IV und Fig. 23, Tafel III dargestellt; dieselben unterscheiden sich durch die Anzahl der Ecken, welche das eine Mal 3, das andere Mal 4 beträgt.

Drittens heben wir noch eine Figur hervor, welche sich vermittelnd zwischen die an erster und zweiter Stelle genannten Bilder einschiebt. Die Mittelplatte ist nicht mehr vorhanden, die Chromatinrosetten noch nicht entwickelt. Immerhin zeigen die etwas wirr durcheinander gekreuzten Chromatinstäbchen schon die Tendenz, sich zu Rosetten anzuordnen (Tafel III, Fig. 24).

Bei der Annahme, daß es sich hier um kopulierte Kerne handelt, stützen wir uns auf zwei Punkte; erstens war es trotz sorgfältigster Untersuchung nicht möglich, noch einen weiteren Kern nachzuweisen, zweitens war die Masse des Chromatins so bedeutend, wie sie in einem isoliert gebliebenen Sexualkern niemals beobachtet wird. Namentlich fällt das Gesagte an den Chromatinrosetten auf, bei denen nicht nur der periphere Kranz von Stäbchen zu sehen ist, sondern auch die centrale Partie von gefärbten Körnchen eingenommen wird.

Sehr eigenthümlich ist während der geschilderten Periode die Protoplasmastrahlung. In einigen Fällen haben wir überhaupt keine Protoplasmastrahlung wahrgenommen, lassen es aber unentschieden, ob dieselbe fehlte oder so schwach entwickelt war, daß sie an Canadabalsampräparaten nicht mehr wahrgenommen werden konnte. Meistenteils war sie, wenn auch nur mit der größten Aufmerksamkeit, nachzuweisen.

Man muß zweierlei Arten der Strahlungsfiguren unterscheiden, erstens Figuren, welche im Anschluß an die Kernpole sich entwickelt haben, zweitens Figuren, welche scheinbar unabhängig vom Kern frei im Protoplasma liegen. In Eiern, bei welchen keine Strahlung an den Kernenden entwickelt ist, begegnet man meistenteils reinen Protoplasmastrahlungen, welche sogar äußerst deutlich ausgeprägt sein können; sie sind stets in Mehrzahl, zwei oder drei vorhanden, bald durch einen geringen, bald durch einen ansehnlichen Zwischenraum vom Kern getrennt, sie können in demselben Ei von verschiedener Intensität sein, wie z. B. in Fig. 24, Tafel III und Fig. 2, Tafel IV eine starke und zwei schwache Strahlungen zu sehen sind; niemals läßt sich im Mittelpunkt ein Körper erkennen, welcher als Attraktionscentrum hätte wirken können; jede Strahlung besteht nur aus einer kleinen lichten Stelle homogenen Protoplasmas, um welche die Körnchen in radiären Reihen gruppiert sind.

Bei den Kernen, deren Chromatin entweder in die centralen Partien zusammengedrängt oder an den Polen in Rosettenform angeordnet ist, sind die Kernpole fast stets Mittelpunkte von mehr oder minder stark ausgeprägter Strahlung; daneben können reine Protoplasmastrahlungen fortbestehen oder, was häufiger der Fall ist, gänzlich fehlen.

Zu dem hier Mitgeteilten haben wir noch zu bemerken, daß zwischen den Eiern, bei welchen die Kerne getrennt sind, und denen, wo die Kopulation sich vollzogen hat, kein Unterschied in Bezug auf das Auftreten von reinen Protoplasma- und von Kernstrahlungen besteht. Die Unterschiede scheinen nur davon abzuhängen, in welchem Entwicklungszustand das Protoplasma und die Kerne sich befinden, gleichgültig ob dieselben sich vereinigt haben oder nicht. Manche Bilder weisen darauf hin, daß die Strahlungen zunächst im Protoplasma entstehen und dann an die Kerne herantreten. Der Spermakern hat z. B. anfänglich nur zwei Strahlungen; dann findet man zweistrahlige Kerne, in deren Umkreis ferner noch eine Protoplasmastrahlung liegt, weiterhin dreistrahlige Kerne mit einer im Protoplasma liegenden vierten Strahlung (Tafel III, Fig. 19), endlich vierstrahlige Kerne.

Die Eier mit faserig differenzierten Kernen mögen etwa die Hälfte des um 1 Uhr eingelegten Materials ausmachen, die andere Hälfte besteht aus Eiern, bei welchen bei der angewandten Konservierungsmethode es äußerst schwer ist, die feinere Struktur zu ermitteln. Viele liefern so undeutliche Bilder, daß erst durch das Studium anschließender Stadien ein Verständnis gewonnen werden kann. Ist man aber einmal so weit gelangt, so ergiebt es sich auch hier wieder von selbst, in welcher Weise man die einzelnen Bilder genetisch zu verknüpfen hat.

Mit ziemlicher Bestimmtheit können wir uns dahin äußern, daß Geschlechtskerne mit ausgebildeten Chromatinrosetten nicht kopulieren, sondern ein jeder für sich nach der Anzahl ihrer Ecken in Tochterkerne zerfallen. Wenn dabei benachbarte Ecken einander sehr genähert sind, so liefern sie einen gemeinschaftlichen Kern; wenigstens glauben wir das daraus schließen zu sollen, daß wir niemals vier Kerne, sondern jederseits nur drei oder sogar nur zwei vorfanden, während die rosettenförmigen Kerne drei oder vier Pole besaßen.

Im Verlauf des Teilungsprozesses tritt eine höchst eigentümliche dendritische oder hirschgeweihartige Figur im Protoplasma

auf (Tafel IV, Fig. 3, 4, 10); zwischen den einzelnen Kernen spannen sich faserig aussehende körnchenfreie Protoplasmastränge aus, welche sich nach der Eiperipherie hin verästeln und hier mit deutlichen Strahlungen enden. An dem konservierten Material ist die Struktur äußerst verschwommen, so daß wir sie in den meisten Abbildungen weggelassen und nur in zwei Figuren so genau, als es möglich war, dargestellt haben. Wir waren aber schon bei der Beobachtung im lebenden Zustand auf sie aufmerksam geworden und hatten von einem frisch in Pikrinessigsäure abgetöteten Ei während der ersten Momente der Reagentienbehandlung, wo das Objekt noch seine volle Durchsichtigkeit besaß, eine in Figur 4 wiedergegebene Skizze entworfen, ohne daß wir freilich damals gewußt hätten, in welcher Weise sich die Figur aus früheren Stadien entwickelt. Aus dieser Skizze und ferner aus dem Ergebniß, zu welchem wir bei der Untersuchung konservierter Eier gelangt sind, entnehmen wir, daß die dendritische Figur eine einheitliche ist und daß in ihr die Teilprodukte des Spermakerns und des Eikerns eingebettet sind, daß diese somit durch die Protoplasmastruktur in Beziehung zu einander gebracht sind. Letzteres ist deswegen von Wichtigkeit, als hierin vielleicht eine wechselseitige Beeinflussung beider zum Ausdruck kommt. Die Äste der dendritischen Figur scheinen nicht untereinander zu anastomosieren, abgesehen von den Stellen, wo früher die Mutterkerne lagen und die anfängliche meist dreieckige Gestalt derselben eine Masche von entsprechender Form bedingt.

Was nun die einzelnen Kernteilungsstadien anlangt, so sind die wichtigsten derselben folgende: 1) Die Formen beider Kerne sind noch an einer undeutlich faserigen drei- oder viereckigen Stelle im Protoplasma zu erkennen; wo die Chromatinrosetten lagen, finden sich Haufen kleiner Kernbläschen, welche sich nicht mehr färben und von der gekörnelten Umgebung daher kaum zu unterscheiden sind (Tafel IV, Fig. 3). Es ist dieses das undeutlichste Bild, welches überhaupt während der besprochenen Prozesse beobachtet wird. 2) Die Kernbläschen sind teilweise untereinander zusammengeflossen, so daß man entweder Gruppen von Kernbläschen oder schon bläschenförmige Kerne vor sich sieht, von denen letztere durch ihre gelappte Beschaffenheit und durch ihre innere Abteilung in einzelne Stücke den abgelaufenen Verschmelzungsprozeß noch bezeugen (Fig. 7 u. 8). 3) Es sind abgerundete kugelige oder gelappte Kerne vorhanden (Fig. 4 u. 10).

Man kann schon auf diesem Stadium zahlreiche Bilder

nachweisen, welche uns zum Schluß berechtigen, daß der Vereinigungsprozeß noch über das bisher geschilderte Maß hinaus sich verfolgen läßt, daß die aus verschmolzenen Bläschen entstandenen zwei oder drei Tochterkerne noch weiter untereinander verschmelzen und somit wieder einen einzigen Kern liefern, welcher entweder dem Spermakern oder dem Eikern entspricht. Wir verweisen hier zunächst auf die Figuren 7, 8. 12, 13 und 15, da wir auf dem folgenden Stadium diese rückgängige Umwandlung der Kerne noch genauer verfolgen werden.

Wo frühzeitig eine Kopulation der Geschlechtskerne stattgefunden und zur Bildung eines einheitlichen Kernes geführt hat, scheint die Weiterentwicklung in ganz analoger Weise abzulaufen, wie wir sie hier für die nicht konjugierten Kerne geschildert haben. Wir schließen das aus dem in Fig. 6c, Tafel IV abgebildeten Präparat. In dem Ei war ein großer Kern vorhanden, derselbe war dreifach gekerbt und zeigte auch im Innern eine Abteilung in drei Stücke. Nach Analogie mit den nicht konjugierten Kernen schließen wir, daß hier eine Dreiteilung mit Wiedervereinigung der Teilstücke stattgefunden hat. Wir machen zugleich darauf aufmerksam, daß hier ein Fall vorliegt, wo ein zweites Spermatozoon eingedrungen ist. Wir haben derartige Fälle häufiger beobachtet (z. B. auch in Fig. 19, Tafel III) und dabei das zweite Spermatozoon stets in der Entwicklung zurück gefunden.

Die Mannigfaltigkeit der Bilder, welche das besprochene Entwicklungsstadium liefert, wird noch weiter dadurch erhöht, daß einige wenn auch äußerst spärliche Eier sich in Teilung befinden. Die Teilung verläuft als Knospenfurchung unter Bildung von gänzlich pathologischen Kernspindeln. Wir werden sie genauer beim folgenden Stadium besprechen.

Der Rest des gesamten um 9 Uhr 50 Min. befruchteten Eimaterials wurde um 3 Uhr nach 5 stündiger Entwicklung abgetötet, weil schon die Untersuchung im lebenden Zustand deutliche Protoplasmastrahlung und bei den meisten Eiern außerdem knospenförmige Teilung ergab.

Hatten wir schon bisher verfolgen können, daß in gleichem Maß, als die Entwicklung fortschreitet, auch die Mannigfaltigkeit der Bilder zunimmt, so gilt dieses ganz besonders von dem zu besprechenden letzten Stadium. Bedingt ist die Verschiedenartigkeit in erster Linie durch den verschiedenen Rhythmus, welchen die einzelnen Zellen einhalten. Bei allen unseren Untersuchungen, auch bei denen über Bastardbefruchtung, hat sich herausgestellt,

daß die Gleichmäßigkeit, welche die Eier bei normaler Befruchtung zeigen, sofort aufhört, wenn man abnorme Verhältnisse einführt, weil dann die Reaktionsfähigkeit der Zellen eine ganz verschiedene ist. Ein Teil wird durch Reagentien stärker, ein anderer schwächer gelähmt; viele erreichen daher ein Entwicklungsstadium, welches für andere schon früh abgelaufen ist, erst nach langer Zeit. Das hat nun aber wieder zur Folge, daß dieses Stadium unter Umständen andere Charaktere annimmt, weil die Veränderungen im Kern und im Protoplasma nicht in gleichem Maße behindert werden.

In zweiter Linie trägt zur größeren Komplikation der Erscheinungen der Umstand bei, daß bei einigen Eiern die Kopulation der Kerne eingetreten, bei anderen unterblieben ist, daß bei einigen jener Vorgang sich früher, bei anderen später vollzogen hat. Dabei spielen Zufälligkeiten eine große Rolle, ob das Spermatozoon in der Nachbarschaft des Eikerns eingedrungen war oder nicht.

Naturgemäß hätten wir nun die Eier in zwei Gruppen einzuteilen: 1. in solche, bei welchen eine Weiterentwicklung ohne Kopulation der Kerne eingetreten ist, und 2. in solche, welche diesen die Befruchtung abschließenden Vorgang durchgemacht haben. Hier ergiebt sich aber sofort die Schwierigkeit, daß man einem in Teilung begriffenen Ei nur in seltenen Fällen und auch dann nicht einmal mit vollkommener Sicherheit ansehen kann, ob es der einen oder anderen Kategorie angehört. Wir werden daher in folgender Weise verfahren; wir werden zunächst bei der Schilderung die Eier behandeln, bei denen eine größere oder geringere Sicherheit vorliegt, daß die Kopulation der Kerne unterblieben ist, und dann aus der Fülle anderweitiger Entwicklungsstadien einige besonders interessante zur Vervollständigung der Schilderung herausgreifen.

Zunächst haben wir noch die Stadien zu berücksichtigen, welche schon bei dem zuletzt behandelten Material vorhanden waren und die zu Gunsten der Ansicht sprechen, daß nach der Teilung eine Rekonstruktion von Ei- und Spermakern sich vollzieht. Solche Eier, zum Teil noch aus dem vorigen Stadium stammend, sind in der Reihenfolge, wie sie sich aller Voraussicht nach aneinander schließen müssen, in den Figuren 3, 4, 7, 8, 10, 12, 13 und 15, Tafel IV abgebildet. Ueberall sind in denselben die Teilprodukte eines jeden Kerns einander genähert und zu einer Gruppe vereint. Man begegnet nun Gruppen jederseits von drei Kernen oder drei Aggregaten von Kernbläschen, Gruppen, wo die eine aus drei, die andere aus

zwei Elementen besteht, Gruppen von jederseits nur zwei Kernen, endlich jederseits nur einem einzigen Kern oder einem einzigen Haufen von Kernbläschen. Die Distanzen zwischen den Kernen einer Gruppe sind wechselnd, in den Figuren 3 und 4 ziemlich bedeutend, in anderen Figuren so gering, daß die Kerne einander fast berühren. Wo zwei Kerne in einer Gruppe vorhanden sind, kann man zweifelhaft sein, ob hier nicht gleich von Anfang an zwei Kernenden so benachbart waren, daß bei der Umbildung die Kernbläschen untereinander verschmelzen mußten. Es wäre auch denkbar, daß eine Kernecke rudimentär entwickelt war. Wir sehen z. B. in Figur 8 auf einer Seite die dritte Ecke ganz schwach durch ein minimales Kernbläschen vertreten, auf der anderen Seite sie ganz fehlen. Die Aufstellung dieser Unterschiede ist jedoch für die prinzipielle Seite der Frage von keiner Bedeutung. Wir wissen, daß beim Eikern und Spermakern ursprünglich vier Ecken oder Attraktionscentren entwickelt sind; ob diese nun früher oder später eine Verminderung durch Vereinigung erfahren haben, ist gleichgültig.

Der Verschmelzungsprozeß der Teilprodukte wird nun am sichersten durch die Fälle bewiesen, wo jederseits nur ein Kern zu sehen ist. Derselbe ist dann häufig gelappt oder sogar aus größeren oder kleineren Kernbläschen zusammengesetzt; aus der Anwesenheit von Kernbläschen kann man aber mit ziemlicher Bestimmtheit die frühere Anwesenheit eines Teilungsprozesses erschließen.

Als weiter vorgeschrittene Fälle von Vereinigung betrachten wir die Eier, wo zwei glatt konturierte Kerne von gleicher Größe und Struktur nebeneinander vorkommen (Fig. 15). Der Kern ist denn auch keine Vacuole mehr, sondern ein fein granulierter, in Karmin aber immer noch schwach sich färbender Körper. Er ist von einer Zone undeutlich strahlig angeordneten Protoplasma's umgeben und wird zum Ausgangspunkt weiterer Veränderungen welche nun erst zu dauernder Kern- und Zellteilung führen. Zunächst reihen sich hier Eier an, bei denen die beiden Kerne in chromatischer Metamorphose begriffen sind (Taf. IV, Fig. 14). Durch Aufnahme von Flüssigkeit haben sie an Größe zugenommen; dadurch ist wieder das reticuläre oder faserige Gefüge der achromatischen Kernsubstanz deutlich geworden, und im Reticulum liegen feine, aber scharf umschriebene chromatische Körnchen oder Fadenschlingen. Einige Eier haben uns erkennen lassen, daß beide Kerne nicht notwendigerweise durchaus gleichzeitig sich verändern müssen, daß der eine weit vorgeschritten sein und sogar seine

scharfe Umgrenzung verloren haben kann, während der andere in der Entwicklung zurück ist. In einem Falle (Fig. 16) haben wir an jedem Kerne eine deutliche Strahlung aufgefunden, vielleicht ist sie auch sonst vorhanden gewesen und nur der Undeutlichkeit wegen übersehen worden.

Die Strahlung ist deswegen von Wichtigkeit, weil durch ihre Anwesenheit Anknüpfungspunkte an eine Reihe weiterer Kernformen geboten werden, zunächst an Kernformen, die auf's neue die schon von früher her bekannte Fächerform uns vor Augen führen. Dieselbe kam früher nur dem Eikern zu, ist aber jetzt bei beiden Kernen vorhanden und zugleich viel kräftiger ausgebildet, indem sowohl die von einem Punkt ausstrahlenden Fasern als auch die Schlingen viel reichlicher sind. Letztere sind manchmal in eine größere und eine kleinere Gruppe verteilt entweder bei einem oder bei beiden Kernen der Eizelle (Fig. 17 u. 18). Auch der Büschel achromatischer Fasern kann dann in entsprechender Weise eine Zweiteilung zeigen, die nun ihrerseits wieder sehr verschieden ausgesprochen ist, manchmal nur darin, daß das Ausstrahlungszentrum etwas in die Länge gezogen ist, während es ein anderes Mal zur Bildung von zwei völlig getrennten Strahlenkegeln kommt. In Figur 18 sind die zwei zusammengehörigen Strahlenkegel auf der einen Seite dicht bei einander, auf der anderen Seite durch einen kleinen Zwischenraum getrennt; in Figur 9 sind die Zwischenräume beiderseits ziemlich beträchtlich. So scheint ein jeder Fächer durch eine Längsspaltung in zwei Teile zu zerfallen und diese wiederum scheinen sich zu bläschenförmigen Kernen umzuwandeln; darauf deuten Figuren hin, wo sich zwei größere und zwei kleinere Kerne vorfinden (Fig. 19). Das Protoplasma ist hier entweder ungefurcht oder, wie in Figur 11, in drei oder vier freilich noch zusammenhängende Stücke abgeteilt.

Da die Unvollständigkeit des Teilungsprozesses wohl nur als eine Folge der durch Chloral bewirkten Protoplasmalähmung gedeutet werden kann, so scheint es den mitgeteilten Untersuchungen zufolge möglich zu sein, daß Eier, bei denen eine Verschmelzung der Geschlechtskerne ausgeblieben ist, gleichwohl sich furchen.

Wir haben jetzt noch die Eier zu berücksichtigen, bei denen es nicht hat festgestellt werden können, ob eine Verschmelzung der Kerne eingetreten war oder nicht. Dieselben zeigen eine Mannigfaltigkeit des Baues, daß man fast jedes Ei getrennt beschreiben müßte; wir beschränken uns daher auf die ganz kurze Beschreibung einiger weniger erläuternder Beispiele.

1. Ei ungeteilt; 1 großer Kern, 2 kleine Kerne; alle 3 Kerne undeutlich konturiert, undeutlich gefasert mit ausgeprägten Chromatinschlingen; mit einfacher Plasmastrahlung.

Derartige Eier scheinen öfters vorzukommen cfr. Fig. 7 Taf. V.

2. Ei ungeteilt, 1 großer zentraler Kern mit einem kleinen anhängenden Kern, beide undeutlich konturiert, in einiger Entfernung 2 weitere Kerne.

3. Ei ungeteilt, an 3 voneinander entfernten Punkten Anhäufungen von chromatischen Schlingen, eine jede mit einem Monaster ausgerüstet und in Zusammenhang mit achromatischen Fäden; die 1. Anhäufung bildet eine pentagonale Figur, die 2. Anhäufung besteht aus einem kleineren und einem größeren Komplex, die beide durch Vermittelung des Kegels farbloser Fasern zusammenhängen; die 3. Anhäufung besteht ebenfalls aus 2 Komplexen, die aber, wie es scheint, nicht mehr in Verbindung stehen.

4. Drei ungleich große, unvollkommen getrennte Teilstücke mit 3 großen und 3 kleinen Kernen.

Die vier hier kurz besprochenen Eier lassen sich vielleicht aus dem 3strahligen Kern ableiten, welcher nach der Verschmelzung von Ei- und Spermakern sich entwickelt hat. Man müßte annehmen, daß von den aus der Teilung des Triasters resultierenden Kernen ein jeder die Fächerform angenommen hat und daß vom Fächer sich eine kleinere Portion ablöste; so würden dann 3 große und 3 kleinere Kerne das Endresultat bilden.

5. Ei ungeteilt: ein einfacher undeutlich konturierter Kern, an einem Ende in einen zungenförmigen Fortsatz ausgezogen; Kernsubstanz aus chromatischen Fäden gebildet.

6. Ei ungeteilt; 4 größere und 1 kleinerer Kern.

7. Ei in 8 mehr oder minder deutlich abgesetzte Höcker erhoben; im ganzen sind 8 Kerne vorhanden; einer davon ist sehr groß und vierlappig; 4 sind von mittlerer Größe, 3 Kerne sind wesentlich kleiner. (Taf. V, Fig. 6).

Dazu kommen dann noch Eier mit äußerst undeutlichen Kernfiguren, bei denen hie und da im Protoplasma zerstreute Kerne, Haufen von Kernbläschen, Aggregate von chromatischen Schlingen sichtbar werden.

2. Behandlung mit 0.5 % Chlorallösung
$1\frac{1}{2}$ Minuten nach der Besamung.

Um 11 Uhr wurde eine neue Partie Eier befruchtet und $1\frac{1}{2}$ Minuten später der Chloralwirkung auf 10 Minuten ausgesetzt. Von dem Material wurden 5 Portionen eingelegt:

die erste	um	11	Uhr	35	Min.,
die zweite	„	12	„	0	„
die dritte	„	1	„	30	„
die vierte	„	3	„	15	„
die fünfte	„	4	„	25	„

Über die ersten beiden Portionen können wir summarisch berichten, da sie an früher Beschriebenes erinnern. Der Eikern ist fast gar nicht verändert, nur etwas geschrumpft, der Spermakern liegt ziemlich oberflächlich und ist bei der ersten Portion wenig größer als der Kopf eines Spermatozoon, bei der zweiten Portion ist er bald wie bei der ersten, bald ist er etwas gewachsen und dann gekörnelt und nicht so stark gefärbt. Seine Gestalt ist entweder abgerundet oder in kleine Fortsätze erhoben. Strahlung fehlt.

In der zweiten Portion liegen beide Kerne ab und zu nahe bei einander; äußerst selten war die Vereinigung vollzogen. Der einfache Furchungskern erinnerte dann in seinem Aussehen an den Eikern, unterschied sich aber von ihm dadurch, daß das grobe Reticulum desselben ersetzt war durch eine fein gekörnelte Masse, welche durch einen lichteren Saum von der Umgrenzung des Kerns getrennt blieb. Gar nicht selten waren in der zweiten Portion Eier, bei denen 2 Spermatozoen eingedrungen waren.

Auf dem 3. Stadium sind die Veränderungen an Ei- und Spermakern in vollem Gang. Der erstere hat stets seine Umgrenzung verloren; wenn er trotzdem vom Protoplasma durch Zertrümmern der Eizelle leicht getrennt werden kann, so hat das seinen Grund darin, daß in seinem Umkreis meist ein heller Hof sich ausgebildet hat. Außerdem hat sich aber auch die innere Struktur verändert, indem die Sonderung in chromatische und achromatische Substanzen sich vollzogen hat. (Taf. V Fig. 2). Die letztere sieht entweder fein granuliert aus, oder sie hat die Struktur eines (oder mehrerer?) in Windungen gelegten Fadens, oder sie besteht aus einer großen Menge gerader und feiner Stäbchen, welche ihrerseits wiederum wirr durcheinander liegen können oder die ersten Spuren polarer Anordnung zeigen. Ist dann nur ein Pol vorhanden oder derselbe deutlicher ausgeprägt als die übrigen, so entstehen Bilder, welche an die oben beschriebene Fächerform erinnern. Äußerst selten sind 4strahlige Kerne, daß sie aber vorkommen, beweist Fig. 3 Taf. V.

Die chromatischen Teile sind meist Körnchen, bei denen es schwer fällt zu entscheiden, ob sie in den achromatischen Fäden eingeschlossen sind oder neben ihnen liegen. Letzteres ist nun

sicher der Fall, wenn — wahrscheinlich durch Verschmelzung der Körnchen — U- oder S-förmige Fadenschlingen sich gebildet haben.

Der Spermakern ist in jedem Ei, welches daraufhin geprüft wurde, vom Eikern zu unterscheiden, wenn auch sein Aussehen wechselt. Gewöhnlich erscheint er unter dem Bild eines in einer Kernvacuole eingeschlossenen Nucleolus (Taf. V Fig. 1 u. 2). An letzterem kann man dann sehr häufig eine linsenförmige achromatische Partie unzweifelhaft erkennen. Nächstdem am häufigsten sind die Zustände, wo im Umkreis die ersten Spuren einer achromatischen Struktur wahrnehmbar werden, wie sie in der Figur 1 in verschiedenen Ausbildungsgraden abgebildet sind. Der chromatische Kernteil ist dann entweder ein noch homogener, runder Körper, oder er ist schon in körniger Umwandlung begriffen. Äußerst selten zu beobachten und offenbar außer aller genetischen Beziehung zu den bisher besprochenen Zuständen ist die Auflösung des Spermakernes in einen aus chromatischen und achromatischen Teilen bestehenden Faden. Ebenfalls selten sind 4strahlige Spermakerne (Ordenssternform), was mit den beim Eikern gemachten Erfahrungen übereinstimmt.

Die nächste Portion Eier wurde um 3 Uhr 15 Minuten eingelegt, als sich bei einem Teil schon Knospungsfurchungen bemerkbar machten. Die meisten Eier waren noch ungeteilt und zeigten im Innern undeutliche helle, durch die Kerne veranlaßte Flecke oder dendritische Figuren. Das Intervall von $1\frac{3}{4}$ Stunden war leider etwas groß bemessen, so daß es schwer fällt, die Bilder, welche sich bei Reagentienbehandlung ergaben, mit den früher erhaltenen in Zusammenhang zu bringen.

Nach der Anzahl der Kerne wollen wir die Eier in 3 Gruppen besprechen: 1. Eier mit 1 Kern, 2. Eier mit 2 Kernen, 3. Eier mit mehr als 2 Kernen.

Wo nur 1 Kern vorhanden ist, kann es nicht zweifelhaft sein, daß eine Verschmelzung der Geschlechtskerne stattgefunden hat. Der konjugierte Kern ist dann meist polygonal und faserig differenziert, die achromatischen Fasern aber nur selten in deutlicher und regelmäßiger Weise nach den Polen orientiert; die chromatischen Teile sind als mehr oder minder ausgesprochene Schlingen unregelmäßig im Kern verteilt, oder, was das Seltenere ist, in Körnchengruppen vereinigt. Außerdem finden sich aber auch Eier mit einfachem, bläschenförmigem Kern, dessen Inneres von einem Netzwerk durchsetzt ist. Das Netzwerk ist schwach

oder gar nicht gefärbt, im letzteren Falle ist die Färbung durch Körnchen bedingt, welche in das achromatische Gerüst eingebettet sind. Man kann nun zweifelhaft sein, wie man diese Befunde deuten soll, ob man annehmen soll, daß die blasenförmigen Kerne hier im Begriff stehen, sich faserig zu differenzieren, oder ob dieselben umgekehrt aus faserig differenzierten durch Rückbildung hervorgegangen sind. Uns ist das erstere wahrscheinlicher.

Auf die gleichen Schwierigkeiten stößt man bei Betrachtung der zweikernigen Eier. Vielleicht mit wenigen Ausnahmen können wir es für sicher halten, daß die beiden Kerne den Ei- und Spermakern vorstellen; sie sind entweder unregelmäßig faserig differenziert (Taf. V Fig. 8) und dann chromatisch, oder sie sind Kernblasen mit einem Reticulum, in welchem einige wenige, gar keine oder eine größere Zahl von Chromatinkörnchen eingebettet sind (Fig. 9). Zwischen Faserkernen und achromatischen Kernblasen findet man alle Übergangsformen, nicht selten derart, daß bei einem der beiden Kerne die Umwandlung vollzogen ist, beim anderen noch nicht begonnen hat oder erst im Beginne steht. In einer früheren vorläufigen Mitteilung hatten wir die Verhältnisse so gedeutet, daß die faserig differenzierten Kerne aus direkter Umbildung von Ei- und Spermakern entstanden seien und daß die bläschenförmigen Kerne ein späteres Stadium darstellen, welches sich aus jenen durch regressive Metamorphose hervorgebildet habe. Jetzt ist uns die umgekehrte Reihenfolge wahrscheinlicher, namentlich im Anbetracht des Umstandes, daß seit dem 3. Stadium ein längerer Zeitraum verflossen war und es nicht anzunehmen ist, daß die Kerne fast 2 Stunden lang auf dem dort schon angelegten faserigen Zustand verharrt hätten. Wir halten es demnach für wahrscheinlicher, daß, wie bei der vorigen Serie, so auch hier eine Teilung von Ei- und Spermakernen sich inzwischen vollzogen hat, und daß die bläschenförmigen Kerne aus Rekonstruktion der Ei- und Spermakerne hervorgegangen sind, um sich von neuem nunmehr zu teilen und zu dem Zweck die faserige Metamorphose einzuleiten. Durch diese Annahme würde es möglich sein, die Ergebnisse der 2. Serie auf die der ersten und, wie wir gleich hinzusetzen können, auch der übrigen Serien zurückzuführen. Die Annahme findet auch darin eine Stütze, daß wir einmal ein Ei gefunden haben, welches die Fig. 5 Taf. V ergab: eine Gruppe von 3 kleinen Kernen und einen Haufen Kernbläschen. Es ist dasselbe Bild, welches wir schon von der Teilung der rosettenförmigen Kerne her kennen.

Bei einigen der 1- und 2-kernigen Eier, auf welche sich vorstehende Schilderung bezieht, war noch ein zweites Spermatozoon eingedrungen; dann fand sich noch ein weiterer, durch seine Beschaffenheit kenntlicher Spermakern vor. Derselbe war in einigen Fällen ein chromatischer Körper mit achromatischem Fortsatz oder er besaß die Ordenssternform.

In die 3. Kategorie gehören Eier mit 3, seltener mit 4 Kernen (Taf. V Fig. 10). Der 3kernige Zustand scheint immer aus einem 2kernigen hervorgegangen zu sein. Häufig findet man nämlich 2 Kerne, den einen kleiner, den anderen größer (Taf. V Fig. 9 *d*); letzterer ist dann eingekerbt, als ob er sich in 2 Kerne teilen wollte. Ich habe vergebens darüber Klarheit zu erhalten gesucht, ob hier einer der Geschlechtskerne ungeteilt geblieben ist, während der andere sich geteilt hat, oder ob der konjugierte Kern erst in 2 Kerne von ungleicher Größe zerfallen ist, von denen nun der größere sich abermals teilt.

Unsicherheit in der Deutung der Bilder herrscht auch bei den Präparaten, welche das letzte Material der in Rede stehenden Serie uns geliefert hat. Dasselbe war um 4 Uhr 25 Minuten, also 1 Stunde 10 Min. später und somit 5½ Stunde nach der Befruchtung eingelegt worden. Ein Teil der Eier war noch rund, ein anderer Teil durch Furchen eingeschnürt. Vielfach war auch jetzt nur 1 Kern vorhanden, dieser durch Einschnürungen in Lappen zerlegt, oder es fanden sich 2 und mehr Kerne von ähnlicher gelappter Form (Tafel V Fig. 11 u. 12). Ferner kommen chromatisch-faserig differenzierte Kerne vor. Im Farbenbild betrachtet, sah man Fadenschlingen, die wurmförmige, weit durch das Ei sich hinziehende Figuren erzeugten; dazu kamen bei Anwendung eines engeren Diaphragmas achromatische Fasern, welche ganz wirr angeordnet sein konnten. Ab und zu war aber die Anordnung eine regelmäßige, dann entstanden fächerförmige Figuren.

3. Versuch. Vornahme der Chloralbehandlung 5 Minuten nach der Befruchtung.

Von den um 11 Uhr befruchteten Eiern war eine Portion 5 Minuten nach der Besamung einer 10 Minuten dauernden Chloralbehandlung unterworfen worden. Die Strahlung um den Spermakern hatte sich noch nicht ausgebildet und trat auch in der Folgezeit nicht auf. Vorübergehend nahm das Protoplasma ein fleckiges Aussehen an, als ob die Eier absterben wollten, doch ver-

schwand dasselbe wieder. Die Eier wurden in folgenden Zwischenräumen abgetödtet:

1. Portion um 11 Uhr 35 Min.
2. Portion um 12 Uhr
3. Portion um 2 Uhr 5 Min.
4. Portion um 4 Uhr 25 Min.

Zur Charakteristik der ersten beiden Portionen bedarf es nur weniger Worte. Strahlung war auch nach der Reagentienbehandlung nicht nachweisbar; die Vereinigung beider Kerne hatte sich nur in äußerst wenigen Fällen vollzogen, zu denen die in Figur 15 (Tafel V) abgebildeten Kerne gehören. Der erstere, aus Portion 1 entstammend, läßt noch die Substanz des Spermakerns als eine granulierte, matt rötliche Masse durch einen hellen Hof von der Substanz des Eikerns getrennt erkennen, welch letztere ein farbloses Reticulum bildet. Bei der 2. Figur, welche der 2. Portion angehört, sind beiderlei Substanzen zu einem feinkörnigen Haufen zusammengeflossen, welcher jedoch das Lumen der Kernblase nicht erfüllt und nach der einen Seite eine helle Randpartie frei läßt.

Bei den Eiern, wo die Befruchtung noch durch die Chloralbehandlung hatte verhindert werden können, war der Spermakern ein gekörnelter, in zackige Fortsätze ausgezogener Körper, der Eikern ein prall gefülltes oder schwach kollabiertes, häufig nur undeutlich konturiertes Bläschen mit retikulärer Anordnung der Kernsubstanz. Sehr häufig war der homogene rundliche Körper, der wie ein farbloser kleiner Nucleolus neben dem Reticulum liegt trotz aller Aufmerksamkeit nicht zu sehen. Die Abstände zwischen beiden Kernen waren meist ziemlich bedeutend, Doppelbefruchtungen waren selten aufzufinden.

Eine Fülle von Bildern lieferte die dritte Portion. Obwohl dieselbe über zwei Stunden nach der zweiten Portion abgetötet war, ließ sich der Zusammenhang mit derselben ohne Schwierigkeit herstellen, was zum Teil dadurch bedingt ist, daß einige Eier in dieser Zeit sich sehr langsam entwickelt haben, während andere ein schnelleres Tempo eingehalten haben.

Über die Beobachtung der Eier im lebenden Zustand haben wir in unserem Tagebuch bemerkt, daß sie häufig merkwürdige dendritische Figuren, deren Enden mit Strahlung versehen waren, zeigten; daß manche in ihrer Grundanordnung an die Hantelfigur erinnerten, daß einige Eier sich unregelmäßig einzuschnüren begannen.

Die Schilderung der Kernveränderungen ist im wesentlichen

dadurch erleichtert, daß sie in vielen Stücken denen gleichen, welche wir von der ersten Serie beschrieben haben, nur ist zweierlei hervorzuheben: daß zu den dort besprochenen noch eine Reihe weiterer Formen hinzukommt, und daß im allgemeinen der Spermakern in seinen Veränderungen noch mehr hinter dem Eikern zurückbleibt.

Eikerne mit farblosem Reticulum und mit Kernmembran sind nirgends mehr vorhanden, wohl aber begegnet man noch hie und da den undeutlich konturierten Körnerhaufen, in denen intensiv rot gefärbte Schlingen und Stäbchen liegen. Wiederholt haben wir sehr typisch entwickelte Fächerkerne gesehen (Tafel V, Fig. 16, 17, 18, 19). In Figur 17 divergieren die achromatischen Fächerspangen so sehr, daß ihre Enden eine gekrümmte Fläche bilden, welche weit größer ist als eine Halbkugel; diese Figur war zum Studium besonders geeignet, namentlich um zu zeigen, daß dem Ende einer jeden achromatischen Spange ein intensiv rot gefärbtes Korn oder Stäbchen ansitzt. Figur 18 ist dadurch von Interesse, daß sie uns die beginnende Umbildung des Fächers zeigt, indem an einer umschriebenen Stelle der Kernoberfläche einige achromatische Fäden sich erheben, welche nach der entgegengesetzten Seite convergieren. So wird ein Teil des Fächers zu einer Spindel ergänzt. Die Umbildung der Fächerform ist noch weiter gediehen in Figur 20, in welcher alle achromatischen Fäden sich über die chromatischen Teile hinaus verlängert und gruppenweise untereinander convergierend im Ganzen drei Spindeln erzeugt haben. Endlich kommen wir zu Fig. 21, welche die Fächerform gar nicht mehr erkennen läßt, welche aus vier in einem Zentrum vereinten Spindeln besteht, auf deren Fasern unregelmäßig verteilte chromatische Stäbchen sitzen. Ob nun hieraus durch Konzentration der achromatischen und chromatischen Teile der in Figur 22 abgebildete Kern entsteht, wagen wir mit Sicherheit nicht zu entscheiden, er könnte ja auch mit Umgehung der Fächerform direkt aus einer faserigen Umbildung des Eikerns entstanden sein, etwa aus einem Kern, wie wir ihn in Figur 16 kennen gelernt haben.

So wären wir zu einem vierpoligen Eikern gelangt, welcher weiterhin durch Verteilung des Chromatins an die Pole in die uns schon bekannte Rosettenform übergeführt wird. Verschiedene Stadien dieser Umlagerung sind in den Figuren 23—25 Tafel V dargestellt; in Figur 23 ist noch kein Pol durch Anhäufung von Chromatin ausgezeichnet, in Fig. 24 sind zwei, in Fig. 25 vier mit Chromatin versehene Pole; überall fehlt aber noch die regelmäßige rosettenförmige Grup-

pierung der Stäbchen, welche erst in den Figuren 26—31 erreicht wird. Unter diesen wiederum zeichnet sich ganz besonders Figur 30 durch die äußerst klare und regelmäßige Anordnung der chromatischen und achromatischen Teile aus. Wenn wir dieselbe analysieren, so haben wir zwei gekreuzte Spindeln, von denen die eine tiefer gelegen ist als die andere. Die Enden beider sind wiederum durch achromatische Fäden verbunden, welche einen schwach gebogenen Verlauf einhalten und bei der Lage der Spindeln in verschiedenem Niveau entweder auf- oder absteigen. Mit diesem aufsteigenden Verlauf hängt es zusammen, daß man die Chromatinrosetten nicht, wie man bei der Lage der Spindeln erwarten sollte, ganz seitlich, sondern nur in halber Profilstellung erblickt.

Die übrigen Figuren sind nicht so klar wie die geschilderte. Wenn die Pole z. B. nicht zwei und zwei einander scharf gegenübergestellt sind, gewinnen die Verbindungsfasern benachbarter Pole das Übergewicht über die gekreuzten Fasern (Fig. 26, 27). Oder ein Pol ist schwach ausgebildet (Fig. 31), so daß dann ein Übergang zu den früher geschilderten dreieckigen Figuren angebahnt wird. Umgekehrt kann es aber auch vorkommen, daß die Übersichtlichkeit der Anordnung durch Ausbildung einer größeren Anzahl von Polen gestört wird. Figur 32 zeigt fünf, Figur 33 sogar sechs Pole.

Vielfach hat auch die Deutlichkeit des Pseudotetrasters dadurch gelitten, daß die ersten Veränderungen an ihm sich vollzogen haben, welche zur Teilung führen. Die Stäbchen sehen dann wie verquollen aus oder sind sogar zu einem runden Körperchen zusammengeflossen. Zugleich ist ihre Imbibitionsfähigkeit geringer geworden, so daß dann die Ecken des Tetrasters nur als undeutlich rote Flecke erkannt werden können (Fig. 29).

Die Veränderungen, welche inzwischen der Spermakern erfahren hat, haben nicht mit den Veränderungen des Eikerns gleichen Schritt gehalten. Vielfach ist noch der aus dem Spermatozoenkopf hervorgegangene homogene, rundliche Körper von Chromatin zu sehen und im Umkreis desselben nur die erste Vorbereitung zu faseriger Differenzierung (wir verweisen auf die analogen Bilder der vorigen Serie, Tafel V Fig. 1). Undeutliche Streifung markiert rings um ihn herum ein viereckiges Feld, nach dessen einem Ende ein achromatischer Fortsatz vom Chromatinkörper ausgeht. Weiterhin begegnet man Figuren, wo die faserige Differenzierung schon entwickelt ist, der Chromatinkörper aber noch homogen ist,

endlich solchen, wo auch der letztere sich verändert und in einen Körnerhaufen umgebildet hat. So kommen wir zu der typischen Ordenssternfigur des Spermakerns. Bei derselben ist uns aber aufgefallen, daß von den früher beschriebenen Schenkeln meist einer schwach entwickelt ist oder sogar ganz fehlt, so daß ein Dreistrahler an Stelle eines Vierstrahlers resultiert. Die Erscheinung ist um so auffälliger, als der Eikern stets vier Pole, ab und zu sogar mehr als vier Pole besitzt.

Wie sehr nun der Spermakern in seinen Metamorphosen hinter dem Eikern zurückgeblieben ist, geht vor allem daraus hervor, daß wir nirgends bei ihm das Rosettenstadium vollkommen ausgebildet fanden. Höchstens waren, wie z. B. in der Figur 32 (Tafel V), die Anfänge zur Umlagerung des Chromatins festzustellen, indem die zentrale Chromatinmasse sich in Stäbchen gesondert und entsprechend den Kernecken, in Fortsätze ausgezogen hatte, oder indem einzelne Stäbchen mehr oder minder weit nach den Ecken vorgerückt waren.

Was wir bisher kennen gelernt haben, bietet im wesentlichen nichts Neues im Vergleich zu den Verhältnissen, welche wir bei der ersten Serie geschildert haben. Neu aber ist bei dem uns beschäftigenden Stadium, daß hie und da, wenn auch in seltenen Fällen, die beiden faserig differenzierten Kerne in Beziehung zu einander getreten sind, um, wenn benachbarte Lagerung es ermöglichte, eine einheitliche Figur zu erzeugen. Diese Vereinigung ist in drei verschiedenen Abstufungen in den Figuren 28 und 29 der Tafel V und Figur 4 der Tafel VI abgebildet. In der letzteren Figur liegen beide Kerne noch auseinander, aber vom Eikern geht ein undeutliches Streifensystem aus, welches mit dem Spermakern in Verbindung steht. In Figur 28 und 29 stoßen der dreipolige Spermakern und der vierpolige Eikern in einem Pole zusammen. Figur 6 der Tafel VI zeigt uns endlich eine Vereinigung beider Kerne zur Bildung einer einheitlichen Figur. Wir sehen einen großen Kern mit 6 Ecken vor uns, jede Ecke, durch die Chromatinrosette ausgezeichnet, sendet zu benachbarten Ecken achromatische Fasern und ist zugleich Ausgangspunkt einer schwachen Protoplasmastrahlung. Die Größe des Kerns und die Abwesenheit eines besonderen Spermakerns stellt die Deutung außer Zweifel, daß hier ein kombinierter Kern vorliegt, welcher wahrscheinlich dadurch entstanden ist, daß beide Kerne mit ein oder zwei Ecken sich vereinigt und eine einheitliche Anordnung der achromatischen Fäden gewonnen haben.

Strahlungsfiguren sind übrigens nicht nur bei konjugierten Kernen vorhanden, sondern schon viel früher. Da sie schwach ausgeprägt sind und somit leicht übersehen werden können, läßt sich über ihre Verbreitung nichts Sicheres aussagen. Ganz besonders ist uns aufgefallen, daß, wie bei der ersten Serie, die Strahlungszentren häufig in einiger Entfernung vom Kern liegen. Namentlich haben wir wiederholt gesehen, daß symmetrisch zum Spermakern zwei Protoplasmastrahlungen vorhanden sind. Indessen lehren die Figuren 29 und 30, daß auch die Kernecken mit Strahlung ausgerüstet sein können, die dann deutlicher beim Spermakern als beim Eikern ist.

Schon im Vorstehenden haben wir einen Fall kennen gelernt, bei dem es zu einer Vereinigung von Eikern und Spermakern gekommen ist. Wahrscheinlich waren hier beide Kerne, ein jeder für sich, metamorphosiert worden, ehe sie sich zusammengelegt hatten. Wie wir von der Beschreibung des früheren Stadiums wissen, kann aber schon viel früher die Kernvereinigung erfolgt sein. Dann entwickeln sich Bilder, wie sie in Figur 34 dargestellt sind, ein vieleckiger Kern in faseriger Umbildung mit chromatischen Fäden und mit mehreren Ecken, die in konische Erhebungen ausgezogen sind.

Seltener als die Eier mit faserigen Kernen sind Exemplare, bei denen die Entwicklung weiter vorgeschritten und die Kernteilung und sogar schon die Kernrekonstruktion eingetreten sind. Teilung kommt sowohl bei kopulierten, als auch bei getrennt gebliebenen Kernen vor. Im letzteren Falle entstehen Bilder, wie sie auf Tafel VI, Fig. 1—3 dargestellt sind, von denen die ersteren beiden der Erläuterung nicht bedürfen. In Figur 3 haben wir rekonstruierte Kerne vor uns, welche nun von neuem anfangen, die Teilung vorzubereiten, indem beiderlei Kernsubstanzen sich gesondert haben und die achromatische Substanz wirr angeordnete Fäden, die chromatische S- und U-förmige Schleifen und Schlingen gebildet hat.

Die analogen Veränderungen, nur mit dem Unterschied, daß ein konjugierter Kern vorliegt, erläutern auf derselben Tafel die Figuren 5, 7 und 8. In Figur 5 ist ein mit 8 Polen ausgerüsteter Kern in 8 Gruppen von Kernbläschen zerfallen, welche aber noch in ganz auffälliger Weise durch unregelmäßig faserige Streifen zu einer einheitlichen Figur vereinigt werden. Figur 8 stellt einen rekonstruierten Kern dar, bei welchem sich die ersten Anfänge der Sonderung in chromatische und achromatische Teile bemerkbar machen. In Figur 7 ordnen sich schon die achromatischen Fäden

nach unbestimmt ausgesprochenen Polen, wodurch auch die Lagerung der chromatischen Stäbchen bestimmt wird.

Schon während der geschilderten Vorgänge hatten Kontraktionen des Protoplasma zu unbedeutenden Gestaltveränderungen der Eizelle geführt; von 4 Uhr ab beginnen Furchungserscheinungen aufzutreten, welche im Laufe der nächsten Stunde wenigstens einen großen Teil der Eier in Teilstücke von ungleicher Größe zerlegen, die aber fast stets noch durch Plasmabrücken zusammenhängen. Obwohl wir zahlreiche Eizellen auf das genaueste studiert und sogar abgezeichnet haben — einige davon liegen den Figuren 9—11 auf Tafel VI zu Grunde —, ist es uns nicht geglückt, einen Zusammenhang in die einzelnen Formen zu bringen, und begnügen wir uns daher, das Wichtigste, was uns im allgemeinen aufgefallen ist, hervorzuheben.

Was zunächst die Teilung anlangt, so haben wir schon bemerkt, daß sie eine unvollkommene und äußerst ungleichmäßige ist. Einmal schwankt die Zahl der Teilstücke von 2 bis 10 — dazu kommen noch gänzlich ungeteilte Eier —, außerdem sind aber auch die Teilstücke variabel; in einem 7-geteilten Ei z. B. sind 5 kleine und 1 mittelgroßes Stück neben einem die Hälfte des Eies repräsentierenden großen Teilstück vorhanden.

Zwischen der Zahl der Kerne und der Zahl der protoplasmatischen Teilstücke herrscht keine Proportionalität. Eier ohne jede Einfurchung der Oberfläche können 4 Kerne enthalten, während bei Eiern, welche in Zweiteilung begriffen sind, der Kern nur als ungeteilte lappige Masse auf der Grenze der Teilstücke liegt. Damit hängt es zusammen, daß Teile des Eies sich ohne Kern abschnüren können; wir beobachteten einmal sogar ein vollkommen losgelöstes Stück ohne das geringste Quantum von Kernsubstanz. Ein solches Stück würde im weiteren Verlauf sicherlich nicht lebensfähig geblieben, sondern zerfallen sein, woraus sich wohl das Auftreten des krümeligen Inhalts bei den früher besprochenen Stereoblastulae erklärt.

Überall hat uns die ganz unverhältnismäßige Massenzunahme der Kernsubstanz, speziell der chromatischen überrascht, selbst bei Eiern, wo nur 1 Kern vorhanden war. Es scheint, daß bei der durch Chloral bedingten Herabminderung der Geschwindigkeit in allen Entwicklungsprozessen die Fähigkeit der Kernsubstanz, durch Assimilation sich zu vergrößern, gar nicht oder doch nur wenig alteriert worden ist, so daß vielleicht die gleiche Menge Kernsubstanz in ungeteilten Eiern vorhanden ist, wie sie den normal

entwickelten Eiern zukommt, welche sich in einem entsprechenden Zeitabschnitt schon auf einem vorgerückten Morulastadium befinden.

Wenn wir auf die Figuren der Kerne achten, so sind gut ausgebildete Spindeln äußerst selten; wo sie vorkommen, sind sie meist ganz auffällig groß, vielfach größer als die in Fig. 9 Taf. VI abgebildete, und außerordentlich reich an dicht aneinander gefügten Spindelfasern und dementsprechend auch reich an Chromatinstäbchen, welche eine ansehnliche Kernplatte erzeugen und nicht selten den Charakter von Schlingen annehmen. Gegen das Protoplasma sind die Spindeln scharf abgesetzt, was vielleicht darin seinen Grund hat, daß die Strahlung im Protoplasma sehr schwach ist. Die Spindeln sind entweder einzeln oder zu Komplexen vereint, indem 3 oder mehr mit ihren Enden zusammenhängen und ab und zu ganz unentwirrbare Massen erzeugen.

Um so häufiger sind Halbspindeln oder, wie wir sie früher genannt haben, fächerförmige Kerne. An ihnen fällt die Massenzunahme der Kernsubstanzen ganz besonders auf; man vergleiche nur in dieser Hinsicht die Fig. 9 und 10 auf Taf. VI und Fig. 14 auf Taf. V. Die achromatischen Fasern sind so massenhaft, daß sie eine von einem Punkt ausstrahlende Schraffierung veranlassen; diese endet an einem dicken Polster chromatischer Kernsubstanz. Sieht man zufällig auf das Ende der Halbspindel herab, so löst sich das Polster in eine Menge wurmförmig gekrümmter Chromatinstäbchen von nahezu gleicher Länge auf (Fig. 9).

Auch Kerne mit polständigen Chromatinrosetten kommen vor. Das in Fig. 11 (Taf. VI) dargestellte Ei zeigt 4 Kerne, an denen die rosettenförmige Anordnung in der Entwicklung begriffen ist. Das Ei ist auch insofern von Interesse, als es Plasmastrahlungen, unabhängig von Kernenden, wie wir sie wiederholt beschrieben haben, enthält. Wir sind versucht, in diesem Falle die 4 Kerne aus Teilung der unverschmolzenen Geschlechtskerne abzuleiten.

Ebenfalls nicht selten sind wurmförmige Kerne, d. h. Kerne, welche abgerundete, höckerige, längliche Körper bilden, welche sich sogar etwas verästeln können. Die Substanz ist hier faserig differenziert in achromatische Fäden von wirrer Anordnung, in welche hie und da Haufen chromatischer Schlingen eingebettet sind.

Es ist selbstverständlich, daß dazwischen auch Eier mit ruhenden bläschenförmigen Kernen vorkommen; sehr häufig sind fast sämmtliche Kerne eines Eies bläschenförmig und nur durch Größe von einander unterschieden. Endlich ist es auch selbstverständlich, daß Übergangsformen zwischen faserigen und bläschen-

förmigen Kernen wahrgenommen werden; das sind dann Kerne, in deren farblosem Reticulum chromatische Körner und Fäden auftreten.

III. Behandlung der Eier mit Chloral 15 Minuten nach der Besamung.

Die letzte Portion Eier wurde der Einwirkung des Chlorals ausgesetzt, nachdem sie schon eine Viertelstunde vorher besamt worden waren. Die Einwirkungsdauer wurde zufällig etwas mehr ausgedehnt als gewöhnlich und erstreckte sich fast auf eine Viertelstunde.

Als die Chloralbehandlung begann, war natürlich die Spermastrahlung schon stark entwickelt und hielt auch noch 15 Minuten lang an, dann aber bildete sie sich allmählich zurück und war nur noch in Resten zu erkennen, als das erste Quantum zur Untersuchung um 11 Uhr 35 Minuten, also 35 Minuten nach der Besamung abgetötet wurde. Bei der Untersuchung ergab sich folgendes Resultat: Fast überall war die Vereinigung von Ei und Spermakern vollzogen, doch so, daß die Substanzen beider noch deutlich unterschieden werden konnten. Der Eikern bildete ein ganz farbloses Bläschen, auf dessen einer Seite die matt rosa gefärbte, schwach granulierte Substanz des Spermakerns eingelagert war. Sie hatte offenbar durch Flüssigkeitsaufnahme schon an Volumen beträchtlich zugenommen und erschien wie eine halbmondförmige Verdickung der Wandung des Kerns eingebettet, so daß dieser an einen Siegelring erinnerte. Das Reticulum des Eikerns selbst war bei einigen Eiern auf eine beschränkte Stelle zusammengedrängt und durch einen hellen Zwischenraum von der Spermamasse getrennt; das homogene Körperchen (Nucleolus) war noch erhalten. An dem Ende, wo der Spermakern dem Eikern eingelagert war, fand sich eine Anhäufung homogenen Protoplasmas und um dieselbe herum waren die Protoplasmakörnchen unregelmäßig streifig angeordnet (Tafel VI, Fig. 13 u. 14). So entstanden zwei Strahlenbüschel, welche links und rechts mit ihren Spitzen an die Kernoberfläche stoßen, da wo die Substanz des Eikerns und die des Spermakerns aneinander grenzen. Ab und zu war die Vereinigung beider Kerne schon seit längerer Zeit vollzogen und dann war auch die homogene Protoplasmaansammlung geschwunden; in Folge dessen war die ganze Seite des Furchungskerns, in welcher der Spermakern eingebettet lag, gleichmäßig von einer deutlichen Strahlung umgeben. Die Anhäufung homogenen Protoplasmas er-

klärt sich aus der Betrachtung der äußerst seltenen Fälle, in denen die Kopulation der beiden Kerne sich noch nicht vollzogen hatte (Tafel VI, Fig. 12). Der Spermakern lag dann als eine granulierte, matt rosa gefärbte Kugel nahe dem Eikern inmitten einer Straße homogenen Protoplasmas, die an diesen heranführte. Auch hier waren die Protoplasmakörnchen in Reihen gestellt, welche links und rechts von der homogenen Straße deutlich nach dem Eikern zu konvergierende Büschel erzeugten.

Denselben gleichförmigen Charakter ergaben Eier, welche ½ Stunde später abgetötet worden waren. Die Kopulation der Kerne war weiter vorgeschritten, so daß man keinen Unterschied zwischen der Substanz des Eikerns und des Spermakerns mehr machen konnte. Fast ausnahmslos enthielt das Ei ein rings scharf umschriebenes Kernbläschen, dessen feste Bestandteile fast ganz konzentriert waren auf eine rundliche granulierte, in Karmin sich nicht mehr färbende Masse, welche das Innere des Bläschens etwa zur Hälfte erfüllte und neben der sich das homogene Korn noch diskret erhalten hatte. Seltener sind mehrere granulierte Anhäufungen in einer Kernblase zu sehen. Im Protoplasma sind keine Reste von strahliger Anordnung erhalten.

Als Ausnahmen haben wir auch hier wieder einige Eier zu verzeichnen, bei denen Eikern und Spermakern sich getrennt erhalten hatten. Man kann sich von denselben eine Vorstellung bilden, wenn man sich die Figur 12 auf Tafel VI der Protoplasmastrahlung entkleidet denkt.

Im Gegensatz zu dem bisher Beschriebenen bietet die folgende Eiportion, welche um 2 Uhr 30 Min. (nach 3½ Stunden) abgetötet worden war, eine Fülle von Bildern, zwischen denen aber unzweifelhaft ein genetischer Zusammenhang herrscht. Sehr häufig sind Eier, bei denen ein einziger rosettenförmiger Kern besteht; derselbe ist im Prinzip ebenso gebaut, wie die rosettenförmigen Ei- und Spermakerne, welche wir auf den vorigen beiden Stadien schon kennen gelernt haben; nur ist der Kern größer, die Zahl seiner Ecken bedeutender. Gewöhnlich sind 8 Ecken vorhanden, welche untereinander durch achromatische Fäden verbunden und von einem Kranz chromatischer Stäbchen umgeben sind. Die Zahl der Stäbchen innerhalb eines Kranzes ist in diesen Fällen ziemlich gleich für alle Ecken (Taf. VI, Fig. 19 u. 21). Wo nun aber Kerne mit 5, 6 oder 7 Ecken gegeben sind, sind 2 oder auch nur 1 insofern stärker ausgebildet, als dann eine besonders große Zahl von gefärbten Stäbchen die betreffende Ecke umlagert (Fig. 22).

Ziehen wir diese Verhältnisse in Betracht und berücksichtigen wir ferner, daß Ei- und Spermakern gewöhnlich 4-eckige Rosettenkerne entwickeln, wenn sie an der Vereinigung verhindert werden, so werden wir zur Annahme geführt, daß in allen diesen Fällen zwar eine Vereinigung der Geschlechtskerne stattgefunden hat, aber mit mehr oder minder vollständiger Durchdringung der Substanzen. Wenn 7 Kernecken vorhanden sind, enthält wahrscheinlich nur die eine, stärker entwickelte Ecke männliche und weibliche Chromatinteile. Demgemäß müßten wir für die 6-eckigen Figuren eine etwas fortgeschrittene, für die 8-eckigen eine weniger innige Vereinigung der Kernsubstanzen annehmen. Im letzteren Falle würde der Zusammenhang von Ei- und Spermakern nur durch die achromatischen Bestandteile des Kerns vermittelt werden. Da für die Befruchtung das Verhalten der Kerne allein von Bedeutung ist, so könnte man hier von einer unvollkommenen — oder um einen trefflich gewählten Ausdruck Pflüger's zu benutzen — von einer fraktionierten Befruchtung sprechen.

In welcher Weise sich um diese Zeit das Protoplasma durch Strahlung beteiligt, haben wir nicht mit genügender Sicherheit ermitteln können. Im lebenden Zustand zeigten die Eier die früher besprochenen dendritischen Figuren, über die wir in unseren Notizen aufgezeichnet haben, daß sie in ihrer Grundanordnung an die Hantel erinnern; am eingelegten Material haben wir wiederholt sehr deutlich 3 Strahlungen erkennen können; die am stärksten entwickelte Strahlung war um eines der Kernenden orientiert, die schwächeren lagen auf der anderen Seite und in einiger Entfernung vom Kern, entweder getrennt voneinander (Taf. VI Fig. 16 u. 18) oder durch eine schmale Brücke untereinander verbunden. Es scheint aber auch vorzukommen, daß alle Kernecken von schwacher Strahlung umgeben sind, (Taf. V Fig. 22).

Wir haben nun nach Kernen gesucht, welche das Rosettenstadium vorbereiten, und haben dabei allerdings einige derartige, wenn auch seltene Formen vorgefunden und 2 davon in den Figuren 16 und 20 (Taf. VI) abgebildet. Die Figur 20 stellt nur einen Teil des Kernes dar, weil bei Abbildung der übrigen Partieen die Zeichnung wirr und unverständlich geworden wäre. Man sieht das Chromatin zwischen 3 Kernpolen zu einer Art Mittelplatte zusammengedrängt, welche in 3 Schenkel ausgezogen ist. In Figur 16 dagegen ist die Verlagerung der Chromatinstäbchen nach den Kernpolen schon im Gange. Letztere Zeichnung ist auch aus einem weiteren Grunde von Interesse, insofern nämlich an dem

kombinierten Kern man ziemlich deutlich noch 2 Teile unterscheiden kann, von denen der eine unzweifelhaft dem Sperma-, der andere dem Eikern entspricht. Beide haben einen gemeinsamen Pol, weshalb der gesammte Kern 7-eckig ist.

An die rosettenförmigen Kerne schließen sich mehrere auf Kernteilung hinweisende Figuren an. Die Kontur des Kerns ist noch in ganz undeutlichen Umrissen erhalten, auch sind noch die letzten Reste von faserigen Streifen zu sehen, welche nach den — meist 8 — Kernecken hinstreben; diese selbst sind daran zu erkennen, daß entweder undeutliche rothe Flecke oder 2, 3 und mehr Kernbläschen hier liegen. (Taf. VI Fig. 25 und 27). Wie aus der Spindel 2 Gruppen von Kernbläschen entstehen, so hat sich hier deren eine ganze Anzahl entwickelt.

Am häufigsten aber sind Eier, bei denen unzweifelhaft eine Rekonstruktion des geteilten Furchungskerns im Gange ist. In einer polygonalen Kerngruppe sind einige Ecken noch von Gruppen kleiner Kernbläschen eingenommen, während in anderen ein einheitlicher oder nur schwach gelappter Kern liegt (Taf. VI Fig. 26); oder die polygonale Figur ist verwischt, man findet an einem Punkt des Eies mehrere (4, 5 oder 6) granulierte Kerne, zum Teil bis zur Verschmelzung genähert (Taf. VII Fig. 4 u. 5), oder es ist nur ein einziger granulierter Kern vorhanden, dessen Oberfläche aber gelappt ist (Fig. 6 u. 7), so daß man eine Zusammensetzung aus 4, 5 oder 6 Stücken erkennen kann.

Gewöhnlich sind derartige Kerne so fein granuliert, daß man ihre Konturen vom umgebenden Protoplasma kaum unterscheiden kann; allein sie können auch mehr den Charakter von Bläschen besitzen, in welchen die Kernsubstanz ein lockeres Netzwerk bildet (Taf. VI Fig. 8); das Netz selbst ist meist farblos, enthält aber chromatische Körnchen. Die Sonderung in achromatische und chromatische Teile ist weiter gediehen in Figur 9, wo letztere schon den Charakter von Schlingen annehmen. Hier schließen sich endlich die Kernfiguren 10 und 11 an; der Kern ist nicht mehr scharf konturiert; seine Form ist oval oder langgestreckt; sein Inhalt unregelmäßig gefasert, und in demselben sind hie und da Gruppen chromatischer Schlingen eingebettet.

Was wir bis jetzt kennen gelernt haben, sind Ausbildungsstufen von Eiern, bei denen eine Kopulation der Kerne sich vollzogen hatte. Nun waren aber einige wenige Eier auf früheren Stadien nachgewiesen worden, wo beide Kerne, wenn auch nahe bei einander liegend, so doch immerhin getrennt geblieben waren. Von

solchen Eiern leiten sich die wenigen Exemplare ab, bei denen Ei- und Spermakern getrennt in die Rosettenform übergeführt worden sind, wie es Figur 17 auf Tafel VI erkennen läßt.

Ungefähr 4 und 5 Stunden nach der Besamung (3 Uhr 13 M. u. 4 Uhr 30 M.) wurden die letzten Eier abgetötet; sie waren meist in Knospenfurchung begriffen und enthielten meist 2 oder mehr Kerne. Diese hatten fast nirgends Spindelform angenommen, entweder waren sie bläschenförmig (Fig. 23 Tafel VI) oder sie waren langgestreckt mit faserig differenziertem Inhalt und chromatischen Schlingen. Fächerförmige Kerne waren ebenfalls selten.

Behandlung besamter Eier mit einer 0.05 % Chininlösung.

Wir haben nur einen einzigen Versuch gemacht, indem wir Eier, welche um 11 Uhr besamt worden waren, 1 Minute später mit einer 0.05 % Chininlösung 10 Minuten lang behandelten. Das eingelegte Material ist leider verloren gegangen und müssen wir uns hier auf die kurzen Notizen beschränken, welche wir bei Beobachtung der lebenden Eier gemacht haben. Danach ist während der ersten Stunde keine Strahlung zu sehen und bildet sich der Spermakern ohne zu kopulieren in ein Bläschen um. Dann aber scheint Befruchtung einzutreten; denn um 1 Uhr waren die meisten Eier auf dem normalen Hantelstadium angelangt, viele 2-, einige sogar 4-geteilt. Nach weiteren 3½ Stunden (4 Uhr 30) waren alle Eier geteilt, einige in 4, die meisten in 8 Teilstücke. Die Entwicklung war nur insofern unregelmäßig, als die Teilstücke von ungleicher Größe waren.

Über das Verhalten der Spermatozoen in unreifen oder unvollkommen reifen Eiern.

Bei unseren vielfältigen Versuchen ist es sehr häufig vorgekommen, daß hie und da im Material Eier enthalten waren, welche noch ihr Keimbläschen besaßen oder in der Eireife begriffen waren, und so war es auch der Fall bei den Eiern, welche erst besamt und dann der Chloralwirkung ausgesetzt worden waren. Dabei hat sich denn herausgestellt, daß die Spermatozoen sich ganz verschieden verhalten, ob sie vor der Chloralbehandlung in ein reifes oder unreifes Ei eingedrungen sind.

Überall wo das Ei noch nicht vollkommen gereift ist, tritt

Polyspermie ein. Eier, welche noch das Keimbläschen besitzen, sind manchmal vollgepfropft von Spermatozoen, deren Zahl bis zu 30 betragen kann, welche dann nesterweise zusammenlagen. Man erkennt von ihnen nur die Köpfe, welche in ihrer 3-eckigen, nach einer Seite zugespitzten Gestalt an Pfeilspitzen erinnern. So findet man sie noch nach Stunden gänzlich unverändert vor, nicht einmal üben sie auf das umgebende Protoplasma einen eine Strahlung erregenden Reiz aus.

Ein einziges Mal und zwar unter den Eiern, welche $\frac{1}{4}$ Stunde nach der Besamung mit Chloral behandelt worden waren, sind wir einem Ei begegnet, welches im Begriff stand, den ersten Richtungskörper zu bilden (Taf. VII Fig. 2). Seit der Chloralbehandlung waren 4 Stunden verflossen; infolgedessen war Strahlung schon wieder vorhanden, wenn auch nicht stark ausgeprägt und zwar an 2 Enden einer homogenen 3-eckigen Figur, in welcher wir die durch Chloral modifizierte Richtungsspindel erblicken; das Chromatin der Spindel war in Form kleiner Stäbchen an verschiedenen Stellen abgelagert. Zahlreiche Spermatozoen, 3-eckige rot gefärbte Körperchen, — in der Figur sind sie nur zum Teil dargestellt — durchsetzten das Innere und bildeten kleine Gruppen, indem sie mit Vorliebe das spitze Ende nach einem gemeinsamen Zentrum richteten. Obwohl sie selbst trotz ihres langen Aufenthalts im Ei unverändert waren, hatten sie doch Einfluß auf das Protoplasma schon gewonnen, welches geringe Spuren von Strahlung an den spitzen Enden der Spermakerne erkennen ließ.

Ein Stoffaustausch zwischen Eiprotoplasma und Spermakernen wird erst bemerkbar, wenn der erste Richtungskörper gebildet worden ist; wir haben 4 solcher Eier aufgefunden und eines davon, welches etwa 4 Stunden zuvor der Chloralbehandlung unterworfen worden war, in Figur 1 Tafel VII abgebildet. Der Richtungskörper liegt in einer Vertiefung der Eioberfläche, darunter ein bläschenförmiger Kern, welcher sich unter dem Einfluß der Chloralbehandlung offenbar aus dem Rest der Richtungsspindel entwickelt hatte. Da in ihm noch die Bestandteile für den Kern des zweiten Richtungskörpers enthalten sind, ist er größer als der Eikern; auch das homogene Korn (achromatischer Nucleolus) ist etwa doppelt so groß als das entsprechende Korn des reifen Eies. Ungefähr 20 Spermakerne sind außerdem vorhanden; sie haben aber — ähnlich, wie es bei den Eiern von Asteracanthion und Nephelis geschieht — sich zu Bläschen mit farblosem Reticulum und wenigen chromatischen Körnchen umgewandelt. Dagegen ist eine faserige Umbildung

nicht eingetreten, obwohl die Zeit, welche seit dem Eintritt der Befruchtung verflossen ist, hierfür lange ausgereicht hätte.

Daß das Eindringen zahlreicher Spermatozoen an und für sich kein Grund ist, eine faserige Differenzierung der Spermakerne zu verhüten, würde schon aus den früher mitgeteilten Untersuchungen hervorgehen, es wird aber außerdem noch durch das Ei bewiesen, welches möglichst naturgetreu in Figur 3 Tafel VII abgebildet ist. In ihm sind 6 an Tetraster erinnernde Figuren zu sehen, von denen wir bisher nur wissen, daß sie aus Umwandlung von nicht konjugierten Ei- oder Spermakernen sich entwickeln. Da im Ei nur 1 Eikern vorhanden ist, müssen die übrigen Körper aus Spermakernen hervorgegangen sein; an einem Pole sind mehrere größere und kleinere Höcker zu sehen, wie sie bei mechanischen Verletzungen des Eies zu entstehen pflegen, und so deuten wir die Verhältnisse in folgender Weise; es liegt ein reifes Ei vor uns, welches aber infolge von mechanischen Insulten verletzt und demgemäß von mehreren Spermatozoen befruchtet worden ist. Die Chloralbehandlung verhinderte die Kopulation der Kerne und veranlaßte, daß Ei- und Spermakerne den selbständigen Entwicklungsgang einschlugen, den wir oben kennen gelernt haben. Es würde sich verlohnen, die Richtigkeit dieser Deutung zu erproben, indem man künstlich die hier vorausgesetzten zufällig entstandenen Verhältnisse erzeugte, was ja keinerlei Schwierigkeiten bereiten würde.

II. Abschnitt.

Beeinflussung der Eier durch chemische Agentien nach Ablauf der Befruchtung während der Vorbereitungsstadien zur Furchung.

Als wir durch die oben mitgeteilten Versuche ermittelt hatten, dass man durch verschiedene chemische Gifte die Geschlechtsprodukte, ohne sie abzutöten, schädigen und dadurch zu anormaler Entwicklung veranlassen kann, warfen wir die Frage auf, ob der durch die Befruchtung angeregte Teilungsprozeß in ähnlicher Weise abgeändert und in seinem Wesen modifiziert werden könne. Nach dieser Richtung konnten wir indessen wegen der fehlenden Muße nur mit 6 Stoffen, mit Nikotin, Strychnin und Morphium, mit Chinium sulfuricum, Chloralhydrat und mit Cocain

Experimente anstellen, die zu einem verschiedenen Ergebnis führten.

1. Beeinflussung der in der Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Nikotin.

Während Nikotin das unbefruchtete Ei auch in stärkster Verdünnung schädigt, wurde bei Anwendung derselben Lösungen auf befruchtete Eier keine Störung hervorgerufen, wie folgende zwei Versuche lehren.

1. Versuch. Am Dienstag den 7 April 2 Uhr 15 Minuten wurden Eier befruchtet, um 4 Uhr 15 Minuten begannen sie sich zu teilen. Eine Partie derselben war um 3 Uhr 10 Minuten bis 3 Uhr 20 Minuten in die Nikotinlösung (1:100) gebracht und dann wieder mit frischem Meerwasser ausgewaschen worden. An den Eiern war keine Veränderung bemerkbar. Die Protoplasmastrahlungen um den Kern erhielten sich in derselben Deutlichkeit wie früher. Es trat gleichfalls um 4 Uhr 15 Minuten die erste Teilung ein und um 5 Uhr 30 Minuten schloß sich daran die Vierteilung.

2. Versuch. Am 15. April wurden Eier um 9 Uhr befruchtet. Nach ein und einer halben Stunde befanden sie sich auf dem Hantelstadium und wurden jetzt während 45 Minuten in die Nikotinlösung gebracht. Um 12 Uhr 45 Minuten erfolgte überall normale Teilung. Am andern Tage hatten sich normale, auf der Oberfläche des Wassers schwimmende Blastulae entwickelt.

Aus beiden Versuchen geht hervor, daß durch die vorübergehende Anwendung von Nikotin der Teilungsmodus als solcher nicht umgeändert werden kann, dagegen wird er, wie wenigstens der 2. Versuch andeutet, bei längerer Einwirkung verlangsamt. Vielleicht hängt diese geringe Reaction befruchteter Eier damit zusammen, daß das Nikotin durch die nach der Befruchtung gebildete Eihülle schwerer eindringt.

2. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Strychnin.

Wie das Nikotin so hat auch Strychnin auf die in Teilung begriffenen Eier einen äußerst geringen Einfluß. Wir wandten eine 0,01 % Lösung 10 Minuten auf Eier an, welche eine Stunde vorher befruchtet worden waren. Um 12 Uhr (3 Stunden nach der Befruchtung) untersucht, waren fast alle zweigeteilt, wenige waren viergeteilt. Auch die weitere Entwicklung war zunächst noch im

großen und ganzen eine normale; am folgenden Tage wurde das Blastulastadium, am dritten das Gastrulastadium durchlaufen. Nur bei wenigen Eiern fand sich in der Furchungshöhle die auf eine gestörte Entwicklung hindeutende Körnchenanhäufung vor. Am 3. Tag war zwar das Kalkskelet schon angelegt, die Form des Pluteus aber noch nicht erreicht, das erste Anzeichen einer etwas intensiver gestörten Entwicklung. Weitere Versuche haben wir nicht angestellt.

3. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Morphium.

Da Morphium die Spermatozoen fast gar nicht und die unbefruchteten Eier nur bei sehr energischer Behandlung verändert, so war auch von den Experimenten mit befruchteten Eiern wenig zu erwarten. In der That hat sich auch eine große Indifferenz herausgestellt, wie aus folgenden 2 Versuchen hervorgeht.

1. Versuchsreihe. Eine größere Quantität Eier wurde am 5. April früh 10 Uhr 30 Minuten befruchtet und in 3 Partien geteilt, die erste verblieb als Kontrollpartie im Meerwasser, die zweite Partie übertrugen wir um 1 Uhr 30 Minuten, als die Teilung in 4 Stücke begann, auf 1 Stunde in eine 0,6 % Morphiumlösung und wuschen dann tüchtig mit frischem Meerwasser aus, die dritte Partie ließen wir sich in 0,1 % Morphiumlösung entwickeln.

Bei beiden mit Morphium behandelten Partien verlief die Furchung normal, nur im Verhältnis zu dem im Wasser befindlichen Teil der Eier verlangsamt; auch fiel es auf, daß die Zellen größer waren und daß die zwischen Dotterhaut und Embryo befindliche Flüssigkeit eine bräunliche Färbung annahm. Ganz abnorm waren dagegen am folgenden Tage in beiden mit Morphium behandelten Portionen die Blastulae. Die sonst kuglige Gestalt war linsenförmig abgeplattet; die Furchungshöhle war ganz minimal; die normalerweise kubischen und äußerst zahlreichen Blastodermzellen waren spärlicher und zu langen pyramidenförmigen Körpern ausgezogen, deren breite Basen die Oberfläche der Blastula bilden halfen, während die abgestutzten verjüngten Enden die Furchungshöhle begrenzten.

Während die im Meerwasser sich entwickelnden Eier noch am 6. April Abends die Gastrulaeinstülpung bildeten und Tags darauf schon das Pluteusstadium erreichten, schwammen die mit Morphium behandelten Blastulae zwar lebhaft herum, rückten aber in der Entwicklung nur langsam vor. Das am 7. April ange-

legte Gastrulasäckchen blieb lange Zeit klein, die Gallertbildung war verlangsamt; in der Gallerte lagen spärliche rundliche Körper. Die Eier, welche in der 0,1 % Morphiumlösung verblieben waren, starben in diesem Zustande allmählich ab, das gleiche Schicksal teilten Eier, welche nach 48stündiger Behandlung am 7. April aus der 0,1 % Morphiumlösung in Meerwasser übertragen worden waren. Nur die aus der 0,6 % Morphiumlösung stammenden Larven lebten noch nach 6 Tagen am 11. April; obwohl das Gastrulasäckchen sich allmählich vergrößert hatte, waren sie doch nicht fähig gewesen die Pluteusform auszubilden.

2. Versuchsreihe. Eier, welche am 15. April früh 9 Uhr befruchtet wurden, dienten ebenfalls zu einem Doppelversuch; ein Teil wurde um 10 Uhr 30 Minuten lang mit 0,5 % Morphiumlösung behandelt, bei einem andern Teil wurde die Konzentration auf 0,4 % herabgesetzt, die Einwirkungsdauer auf 1 Stunde verlängert.

Die Teilung trat erst um 12 Uhr, also etwas verlangsamt ein, war aber im großen und ganzen normal, direkte Vierteilungen und unvollständige Teilungen waren selten. In analoger Weise verlief die spätere Entwicklung; das Pluteus- und Gastrulastadium traten etwas später als normal ein, waren aber regulär ausgebildet, nur daß die Gallertausscheidung auffallend gering war. Letzteres gab bei dem 1 Stunde lang mit Morphium behandelten Material den Plutei ein geschrumpftes Ansehen.

4. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Chinium sulfuricum.

Da wir bei Anwendung einer 0,05 % Chininlösung überraschende und interessante Erscheinungen entdeckten, so beschränkten wir uns nicht auf die Beobachtung während des Lebens, sondern nahmen nachträglich noch an conserviertem Material Untersuchungen vor, die uns genaue Einblicke in die eigentümlichen Kernveränderungen im Innern der Eier gewährten. Wir teilen hierüber zwei Untersuchungsreihen mit, von welchen sich die erste allein auf lebendes Material bezieht.

1. Versuch. Um 8 Uhr 35 Minuten befruchtete Eier befanden sich um 9 Uhr 40 Minuten im Vorbereitungsstadium zur Teilung.

Das Eimaterial wurde nun in 5 Portionen geteilt. Eine derselben wurde in reinem Meerwasser belassen und begann sich um 10 Uhr 35 Minuten, also 2 Stunden nach der Befruchtung zu

teilen; die 4 anderen Portionen wurden in verschiedener Weise der Einwirkung einer 0,05 % Chininlösung unterworfen.

Portion a. Die Eier wurden um 9 Uhr 40 Minuten 10 Minuten lang in die Chininlösung übertragen und dann in reines Meerwasser zurück versetzt. Bei sofort vorgenommener mikroskopischer Untersuchung war jetzt die Eistruktur im wesentlichen verändert. In den Raum zwischen Dotter und Eihaut war etwas von dem Farbstoff, welcher den Eiern ihr gelbrötliches Aussehen verleiht, ausgetreten. Die um den Kern ursprünglich vorhandene und scharf ausgeprägte strahlige Anordnung des Protoplasma hatte sich rückgebildet. Um 11 Uhr begannen sich indessen die Eier wieder zu erholen. Das strahlige Gefüge des Protoplasma um den Kern bildete sich von neuem aus. An vielen Objekten zeigte sich das Hantelstadium. Um 11 Uhr 5 Minuten, also eine halbe Stunde später als bei dem unbehandelt gebliebenen Eimaterial konnten schon vereinzelte in normaler Weise ablaufende Zweiteilungen beobachtet werden.

Bei anderen Eiern war die Störung eine intensivere. Anstatt sich in 2 Zellen zu teilen, schnürten sie sich, wie namentlich um 11 Uhr 45 Minuten häufig zu sehen war, in vier unregelmäßige Stücke ein, die gewöhnlich noch eine Zeitlang durch dickere Stiele in Zusammenhang blieben.

Portion b. Die Eier der zweiten Portion wurden von 9 Uhr 40 Minuten bis 10 Uhr der Chininwirkung ausgesetzt und wieder in reines Wasser übertragen. Nachdem die Strahlenbildung durch das Reagens aufgehoben war, kehrte sie erst nach 70 Minuten an den beiden Polen des ovalen Kerns wieder. Hier und da entstanden statt des gewöhnlichen Amphiasters deutliche Tetrasterbildungen. Um 11 Uhr 20 Minuten kam es zur Teilung, wobei die Eier teils in 2, teils in 4 Stücke zerfielen, die häufig noch längere Zeit in Zusammenhang blieben.

Portion c. Bei einer dritten Portion wurde die Einwirkung des Chinin auf eine halbe Stunde ausgedehnt (von 9 Uhr 40 Minuten bis 10 Uhr 10 Minuten). Es hatte dies zur Folge, daß die Strahlung im Protoplasma auf noch längere Zeit unterdrückt wurde. Denn sie begann jetzt erst um 11 Uhr 30 Minuten wieder hervorzutreten. Es entstanden vereinzelte Amphiaster und zahlreichere Tetraster. Noch weiter war das Teilungsstadium hinausgerückt. Denn erst um 12 Uhr 30 Minuten waren einzelne Eier zweigeteilt. Die größere Anzahl dagegen schnürte sich in 4 Stücke ein. Der weitere Entwicklungsgang wurde immer mehr unregelmäßig, indem

die Teilprodukte sehr ungleiche Größe erhielten. Der häufigste Fall war der, daß sich neben 4 großen noch 4 kleinere Zellen vorfanden. Im Übrigen war durch die Chininbehandlung das Eimaterial dauernd geschädigt worden; die sich entwickelnden Blastulae waren monströs und es wurde am zweiten und dritten Tage die Zahl der absterbenden und zerfallenden Eier immer größer.

Portion d. Eine vierte Partie Eier wurde in die Chininlösung erst übertragen, als der Amphiaster schon vollständig ausgebildet war (also kurze Zeit vorher, ehe die Teilung hätte erfolgen müssen), und nur 5 Minuten in ihr belassen (von 10 Uhr 30 Minuten bis 10 Uhr 35 Minuten). Nur wenige der schon am weitesten vorgeschrittenen Eier teilten sich oder schnürten sich wenigstens zur Hälfte ein. Bei dem größten Teil bildete sich die Strahlung zurück. Um 3 Uhr war auch an diesen Eiern ein nachträglicher Zerfall in einzelne ungleich große Stücke eingetreten, von denen zuweilen eines 4 bis 6 Strahlungen enthalten konnte.

2. Versuch. Die Eier wurden um 9 Uhr befruchtet und, als sie sich auf dem Hantelstadium befanden, um 10 Uhr 30 Minuten auf 20 Minuten in eine Chininlösung von 0,05 % gebracht. Um 12 Uhr waren in den meisten Eiern sehr deutlich vielstrahlige Figuren zu beobachten. Ein Teil des Materials wurde hierauf zum Zweck genauerer Untersuchung in Pikrinessigsäure eingelegt.

Eine Stunde später begann hier und da der Teilungsprozeß. Einige Eier schnürten sich in 4 Stücke ein. Andere waren auf ihrer Oberfläche mit zahlreichen Knospen bedeckt. Abermals wurde ein Teil des Materials konserviert.

Um 3 Uhr waren fast alle Eier in unregelmäßige Haufen kleiner Zellen zerfallen. Hier und da zeigte ein Ei auch nur mehrere Einschnürungen auf seiner Oberfläche.

An dem in zwei Intervallen eingelegten Material ließ sich nachträglich über die am Kern vor sich gehenden Veränderungen noch folgendes feststellen.

Die Kernspindeln, welche bei Zusatz der Chininlösung sich in Vorbereitung zur Teilung befanden, hatten sich vollständig zurückgebildet und an ihrer Stelle waren eine Stunde später ganz abweichende Kernfiguren entstanden. Wir beschreiben hier einige derselben, wie sie sich im Entwicklungsgang wohl aneinander anreihen müssen, denn die um 12 Uhr eingelegten Objekte befanden sich nicht auf dem gleichen Entwicklungsstadium.

An manchen Objekten beobachteten wir im Dotter einen Hau-

fen verschieden großer Kernbläschen, in welchen das Chromatin in einem Netzwerk angeordnet war (Taf. III, Fig. 6). Von Strahlung war nichts zu sehen. Die Kernbläschen werden sich aus den Chromatinkörnern der Spindel in ähnlicher Weise hervorgebildet haben, wie es bei Entstehung der Tochterkerne geschieht, wo auch erst jederseits von der Teilungsebene nach eben vollendeter Furchung je ein Haufen zusammengedrängter Kernvacuolen erscheint. Daraus entwickelt sich dann, so schließen wir aus unserer Untersuchung des konservierten Materials weiter, ein ziemlich großer blasenförmiger Kern mit einem Netzwerk achromatischer Fäden, denen chromatische Substanz angelagert war (Taf. III, Fig. 2). An vier Stellen seiner Oberfläche waren gewöhnlich 4 Strahlungen, entweder nur schwach angedeutet oder stark entwickelt. An diesen Stellen war in der Regel die Kernoberfläche in kleine Höcker ausgezogen und undeutlich begrenzt. Darauf verwandelte sich der vierstrahlige Kern in einen Haufen von Spindeln, welche zwischen den 4 Strahlungen in einer etwas verschiedenen Weise angeordnet sind (Tafel III, Fig. 4). Die Umwandlung geschieht in der Art, daß die Umrandung des Kerns verschwindet und die Chromatinfädchen frei zwischen die Strahlungen zu liegen kommen. Dann werden zwischen den Strahlungen Spindelfasern auf der Oberfläche des Haufens von Chromatinfädchen sichtbar. Auf einem noch weiter vorgerückten Stadium verteilen sich die Chromatinteile in typischer Weise auf die einzelnen Spindeln und stellen so im Äquator derselben je eine Kernplatte dar; hierdurch kommen folgende, voneinander etwas abweichende und zuweilen sehr regelmäßige Kernfiguren zu stande.

Der häufigste Befund ist, daß die vier Strahlungen etwas weiter auseinander gerückt und durch fünf typische Spindeln verbunden sind (Taf. III, Fig. 3). Vier derselben umgrenzen zusammen einen Rhombus, in dessen Ecken sich die vier Strahlungen befinden und je 2 Spindelspitzen zusammenstoßen. Die fünfte Spindel verbindet 2 entgegengesetzte Ecken des Rhombus, liegt also innerhalb desselben. Hierbei sind auch die Kernplatten zu einer charakteristischen, (durch beistehende Zeichnung wieder gegebenen) Figur verbunden, welche besonders im Farbenbild deutlich erkannt wird. Je zwei Kernplatten zweier in der Begrenzung des Vierecks gelegenen Spindeln stoßen unter einem stumpfen Winkel zusammen, dessen Spitze nach der Mitte der Figur gerichtet ist. Die Spitzen der zwei nach entgegengesetzten Richtungen geöffneten Winkel werden durch die fünfte Kernplatte verbunden.

Abweichungen von dieser gewöhnlichen Form kommen nicht selten vor und bestehen darin, daß eine Strahlung von den drei übrigen etwas weiter entfernt liegt (Taf. III, Fig. 1). Dann sind die drei Strahlungen durch drei Spindeln zu einem Triaster vereinigt. Im Mittelpunkt des so gebildeten gleichschenkeligen Dreiecks stoßen die 3 Kernplatten zusammen, wieder eine regelmäßige Figur erzeugend. Die vierte abseits liegende Strahlung hängt durch eine einzige Spindel mit einer Strahlung des Triasters zusammen.

Als ein Übergang zwischen den beiden soeben beschriebenen Befunden läßt sich wohl Tafel III, Fig. 5 betrachten. Hier geht von der mehr isoliert gelegenen Strahlung x noch eine zweite, aber schwach und unvollständig ausgebildete Spindel, deren Kernplatte nur aus sehr wenigen und kleinen Chromatinkörnchen besteht, nach einer zweiten Strahlung des Triasters.

Daran schließen sich die Stadien, die zur Teilung führen. Die Kernplatten der 4 oder 5 Spindeln weichen auseinander und wandern nach den in den Strahlungen gelegenen 4 Attraktionszentren. Hier tauchen in regelmäßigen Abständen von einander vier Kerne auf (Taf. II, Fig. 21), die durch die Verschmelzung von 2 respektive 3 Kernplatten hervorgegangen sind und zuweilen noch durch einen körnchenfreien Dotterstreifen verbunden sind. Später rücken die Kerne mehr auseinander nach der Oberfläche des Dotters und veranlassen in manchen Fällen den Dotter, sich in unregelmäßiger Weise einzuschnüren, so daß ebenso viel Höcker als Kerne gebildet werden. Zu einer vollständigen Teilung in 4 Stücke kommt es in der Regel nicht.

Hervorzuheben ist auch noch, daß infolge der Chinineinwirkung sich im Dotter größere und kleinere glänzende Kugeln, die vielleicht aus Fett bestehen, ausgeschieden und namentlich im Zentrum, sowie in Streifen zwischen den Kernen angesammelt haben (Taf. II, Fig. 21).

Die 4 Kerne schicken sich bald darauf wieder zur Teilung an, indem an zwei entgegengesetzten Polen Strahlen entstehen. Jeder Kern gestaltet sich zu einer typischen Spindel um, welche häufig parallel zur Oberfläche des Eies in der Dotterrinde eingelagert ist. (Taf. II, Fig. 22). Dabei vertiefen sich die schon früher erwähnten Einschnürungen langsam und jede Spindel kommt in einen Höcker oder eine Knospe zu liegen (Fig. 22). Entweder wird die Trennung jetzt schon eine ziemlich vollständige oder es treten die 4 Spindeln, indem ihre Kernplatten in 2 Hälften auseinanderweichen

(Taf. II, Fig. 24) in Teilung ein, ehe die Furchen weit in das Dotterinnere gedrungen sind. Dies hat zur Folge, daß sich die 4 ersten Höcker, noch ehe sie von einander getrennt sind, abermals einzuschnüren beginnen, ein Modus der Zellenvermehrung, für welchen wir den Namen Knospenfurchung eingeführt haben.

5. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Chloral.

In einer im ganzen ähnlichen Weise wie Chinium sulfuricum wirkt Chloral auf den Entwicklungsgang befruchteter Eier störend ein, wie wir sowohl an frischem als auch an konserviertem Material haben feststellen können. Wir geben zunächst auch hier wieder das Protokoll aus unserem Tagebuch von 3 Versuchen, von denen der letzte das Material zur Konservierung geliefert hat.

1. Versuchsreihe. Am Donnerstag den 2. April wurden Eier um 9 Uhr 20 Minuten befruchtet, um 10 Uhr 30 Minuten standen sie auf dem Hantelstadium, um 11 Uhr teilten sie sich. Sie wurden, als sie auf dem Hantelstadium angelangt waren, in 4 Partien geteilt und verschieden lange Zeit mit einer 0,5 % Lösung von Chloralhydrat behandelt.

Portion a. Nach viertelstündiger Behandlung mit Chloral (10 Uhr 30 Minuten bis 10 Uhr 45 Minuten) wurden die Eier in frisches Meerwasser zurückversetzt. Die Hantelfigur war nur noch als eine körnchenfreie Stelle im Dotter angedeutet, da die Strahlung fast ganz geschwunden war.

Portion b. Die Chloralwirkung währte eine halbe Stunde und veranlaßte dieselben Veränderungen wie oben. In beiden Partien begannen sich die Eier um 2½ Uhr in unregelmäßiger Weise zu zerklüften, wobei ähnliche Bilder entstanden, wie sie bei der Überfruchtung als Knospenfurchung beschrieben wurden. Auf der Oberfläche des Dotters entwickelten sich größere und kleinere Knospen, die längere Zeit miteinander verbunden blieben und sich durch weitere Einschnürungen vermehrten und schließlich in größere und kleinere Teilkugeln zerfielen. Die Kernteilung eilte den Veränderungen im Protoplasma voraus. Denn in den größeren Stücken konnten wir um 3 Uhr 15 Minuten zuweilen 4—6 schwach ausgeprägte Strahlungen wahrnehmen. Um 5 Uhr ist der Furchungsprozeß so weit fortgeschritten, daß der Dotter trotz des gestörten Entwicklungsganges in lauter kleine ziemlich regelmäßige Furchungskugeln zerfallen ist, von welchen die kleineren sich mehr im Zentrum der Morula anhäufen.

Am folgenden Tag war ein kleinerer Teil des Eiquantums abgestorben und zerfallen. Der größere Teil hatte sich in Blastulae umgebildet, deren Inneres mit Körnern und Kugeln anstatt mit Gallerte ausgefüllt war. Zwischen ihnen schwammen einige ganz kleine Flimmerkugeln oder unregelmäßige Fragmente von solchen herum, die in der Weise entstanden waren, daß aus den Blastulae die im Inneren enthaltene abnorme Körnermasse durch einen Riß der Zellenhaut ausgeflossen war. Am dritten Tage hatten sich die pathologischen Blastulae noch etwas weiter entwickelt. An einer Stelle hatte sich die Zellenmembran verdickt und Pigmentkörnchen aufgenommen. Hier und da begann sich diese Stelle in's Innere einzusenken, mit welchem Prozeß die Einleitung zur Gastrulation gegeben war.

Portion c. Eine einstündige Behandlung der Eier mit Chloral (10 Uhr 30 Minuten bis 11 Uhr 30 Minuten) rief ähnliche Erscheinungen wie oben, nur in einem noch höherem Grade hervor. Es bildeten sich unregelmäßigere Knospen und in größerer Anzahl. Die Eier waren stärker geschädigt, was sich auch darin zeigte, daß das Protoplasma bei der Teilung fast gar keine Strahlung erkennen ließ und daß am folgenden Tage fast alle Eier zerfallen waren. Die noch überlebenden Larven waren arg verstümmelt. Unter ihnen sah man einzelne flimmernde Zellmembranen, die etwas zusammen gekrümmt waren. Sie sind wohl in der Weise entstanden, daß einzelne Blastulae geplatzt sind und den in ihrem Inneren eingeschlossenen körnigen Detritus nach außen entleert haben. Der letztere stellt wohl den Teil des Protoplasma der Eizelle dar, welcher infolge der Chloralbehandlung geschädigt und abgestorben ist, und welcher während der Knospenfurchung vom lebenden Protoplasma eliminiert und im Zentrum der Blastula angesammelt wurde.

Portion d. Die Chloralbehandlung wurde $5\frac{1}{2}$ Stunden (von 10 Uhr 30 Minuten bis 4 Uhr) fortgesetzt. Die Eier hatten jetzt ihre Entwicklungsfähigkeit eingebüßt, auch waren sie in ihrer inneren Struktur verändert, indem sie grobkörnig geworden waren.

2. Versuch. Die Eier wurden um 2 Uhr 15 Minuten befruchtet und um 3 Uhr 10 Minuten bis 3 Uhr 20 Minuten in 0,5 % Chloral gebracht. Die Strahlung erlosch allmählich. Der Kern war um 4 Uhr noch sichtbar, eine Viertelstunde später war er undeutlicher geworden und um 5 Uhr 20 als besonderes Gebilde im frischen Zustande verschwunden. Um 8 Uhr

zerfielen die Eier durch Knospenfurchung in zahlreiche Stücke. Am anderen Tage waren unregelmäßige Larvenformen entstanden, manche waren nur Haufen von epithelartig zusammengeordneten flimmernden Zellen. Dem Haufen lagen innerhalb der Eihülle noch größere und kleinere aus dem Verbande der übrigen ausgeschiedene Zellen locker an. An den folgenden Tagen starben viele Larven ab; einige indessen ließen sich eine Woche lang am Leben erhalten und flimmerten in Massen als Blastulae herum, die im Inneren einen Gallertkern entwickelt hatten und hier und da mit braunen Pigmentflecken bedeckt waren.

3. Versuch. Die Eier wurden um 12 Uhr befruchtet und von 1 Uhr 7 Minuten bis 1 Uhr 17 Minuten in Chloral gebracht. Das Material wurde zur Untersuchung konserviert und auf 3 verschiedenen Stadien um 2 Uhr, um 3 Uhr und 4 Uhr in Pikrinessigsäure eingelegt.

Um 2 Uhr ist in den Eiern die Strahlung verschwunden; nach Färbung mit Boraxkarmin sieht man im Dotter eine helle, körnchenfreie Stelle, in welcher sich der in seiner normalen Entwicklung gehemmte Kern zu einem Haufen chromatischer Körnchen zurückgebildet hat (Taf. III, Fig. 9). Aus demselben ist nach einer Stunde eine größere Anzahl dicht zusammengedrängter Kernvacuolen hervorgegangen (Taf. III, Fig. 7a und b). Ab und zu können dieselben auch im Dotter auf 2 oder 3 Stellen zerstreut sein. Hiermit ist der Beginn einer neuen Entwicklungsrichtung in der Eizelle eingeleitet. An dem Haufen der Kernvacuolen, welche in den meisten Fällen zu einem mit Höckern bedeckten Bläschen zusammengeflossen sind, treten 4 Strahlungen auf (Taf. III, Fig. 8) wie bei den mit Chinin behandelten Eiern, nur mit dem Unterschiede, daß die Strahlungen nie eine größere Ausdehnung erreichen, sondern stets auf die nächste Umgebung des Kerns beschränkt bleiben. Zwischen den Strahlungen verschwindet alsdann die blasenartige Beschaffenheit des Kerns und es kommt jetzt die chromatische Substanz frei in den Dotter zu liegen (Taf. III, Fig. 10). Hier ordnet sie sich zu fünf, je in der Mitte zwischen zwei Strahlungen gelegenen Kernplatten an, welche zu der charakteristischen Figur, die wir schon für die mit Chinin behandelten Eier beschrieben haben, vereinigt sind (Taf. III, Fig. 11). Doch sind die Kernfiguren an diesen Praeparaten viel kleiner und undeutlicher, daher wir auch die Spindelfasern zwischen den 4 Strahlungen nicht klar unterscheiden konnten. Aus dem Tetraster bilden sich später vier Kerne hervor.

Zu dieser Zeit kann man auf der Oberfläche des Dotters durch Einschnürungen 4 Höcker entsprechend den vier Kernen entstehen sehen. Noch ehe indessen die Höcker sich als Knospen abschnüren, treten die 4 Kerne bereits in ein neues Teilungsstadium ein, indem sie sich in Kernspindeln umwandeln. Im allgemeinen läßt sich die Regel feststellen, daß allen Kernveränderungen die Zerklüftung des Protoplasma nur langsam nachfolgt. Die vier Spindeln können sich schon zu 8 Kernen zerteilt haben und diese abermals in Spindelbildung übergegangen sein, ohne daß sich der Zusammenhang zwischen den vier zuerst entstandenen Protoplasmahöckern gelöst hat (Taf. II, Fig. 25). Nur ist die Einschnürung zwischen ihnen größer geworden und sie selbst haben sich mittlerweile mit secundären und tertiären Einschnürungen bedeckt, in welche die an Zahl vermehrten Spindeln oder Kerne eingebettet sind. So zeigt zum Beispiel das in Fig. 25 dargestellte Ei zahlreiche noch verbundene größere und kleinere Knospen, in welchen 8 Spindeln gezählt werden konnten.

6. Beeinflussung der in Vorbereitung zur Teilung begriffenen Eier durch Cocain.

Durch die mit Chinin und Chloralhydrat erhaltenen Resultate veranlaßt, nahmen wir auch eine Prüfung mit Cocain vor. Am 15. April wurden Eier um 9 Uhr befruchtet und, als sie sich um 10 Uhr 30 Minuten auf dem Hantelstadium befanden, für 20 Minuten in eine 0,05 % Lösung von Cocain gebracht. Das Ergebniß war ein ähnliches wie das durch Chinin und Chloralhydrat erhaltene. Denn gegen 12 Uhr begannen sich viele Eier zu vierteilen. Es sind also auch hier durch die Cocainwirkung die 2 Attraktionszentren des Amphiasters in 4 Zentren zerlegt worden. Aus den 4 Teilstücken waren um 3 Uhr kleine Zellenhaufen hervorgegangen. Auch an den folgenden Tagen schritt die Entwicklung weiter vor und führte allmählich zur Bildung etwas anormal beschaffener Blastulae und Gastrulae. Dabei starben in den Zuchtgläsern immer viele Larven ab. Auch war der ganze Entwicklungsprozeß im Vergleich zu Eiern, die nicht mit Reagentien behandelt worden sind, außerordentlich verlangsamt.

Zweites Kapitel.

Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch thermische Veränderungen.

Da das Protoplasma durch Abkühlung und Erwärmung, wie namentlich das Studium der Protoplasmaströmung an geeigneten Objekten gelehrt hat, in seinen Lebensäußerungen in sehr auffälliger Weise beeinflußt wird, so lag es nahe bei den von uns vorgenommenen Untersuchungsreihen auch zu prüfen, ob der Befruchtungsvorgang durch thermische Einflüsse modifiziert werden könne. In Anbetracht der karg zugemessenen Zeit experimentierten wir nur nach einer Richtung, indem wir von einer Herabsetzung der Temperatur durch Kältemischungen Abstand nahmen. Den Einfluß einer erhöhten Temperatur auf die Eier prüften wir dagegen in einer zweifachen Weise, erstens indem wir bei konstanter Temperatur die Dauer der Einwirkung variierten, zweitens indem wir bei gleicher Dauer der Einwirkung verschiedene Temperaturgrade benutzten.

In ersterem Fall wurde ein größeres Eiquantum in ein mit Meerwasser gefülltes Reagensröhrchen gebracht und in Wasser getaucht, das auf 31 Grad Celsius erwärmt war und gleichmäßig auf dieser Temperatur erhalten wurde. Nach 10, 15, 30, 45, 60 Minuten etc. wurde ein Teil der im Reagensröhrchen erwärmten Eier mit einer Glasröhre herausgenommen und im Uhrschälchen befruchtet. Die eintretenden Veränderungen wurden teils am lebenden Objekt, teils an todtem Material untersucht, welches zum Zweck genaueren Studiums konserviert worden war.

Im anderen Falle experimentierten wir in der Weise, daß wir in Wasser von 44° Celsius Wärme Eier in einem Reagensröhrchen während 5 Minuten erwärmten und dann befruchteten. Mit anderen Portionen von Eiern verfuhren wir genau ebenso, nachdem sich das Wasser auf 42, 41, 40 etc. bis zu 30° Celsius abgekühlt hatte.

Erste Versuchsreihe.

Eier in Wasser von 31° Celsius während verschieden langer Zeit erwärmt.

a. Eier 10 Minuten auf 31° Celsius erwärmt.

Wenn die Eier nur während 10 Minuten einer Erwärmung von 31° Celsius ausgesetzt wurden, so schien zunächst der Be-

fruchtungsvorgang in normaler Weise zu verlaufen. Die Dotterhaut wurde überall rasch und scharf abgehoben. Man sah nur einen kleinen Befruchtungshügel gebildet werden. Indessen lehrte der weitere Verlauf, sowie die Untersuchung mit Reagentien, daß schon durch die kurze Erwärmung nicht unerhebliche Veränderungen gesetzt worden waren. Ein Teil der Eier wurde eine Viertelstunde nach Vornahme der Befruchtung abgetötet, eine zweite Portion $1^1/_4$ Stunde darauf. In ein drittes Gläschen wurden Eier gesammelt, die später in verschiedenen Zeitintervallen in Pikrinessigsäure gebracht worden waren.

Bei Reagentienbehandlung überzeugt man sich nach Färbung mit Boraxkarmin auf das unzweideutigste, dass für gewöhnlich eine Befruchtung durch ein Spermatozoon und nur ausnahmsweise eine solche durch deren zwei stattgefunden hat. Aber der normale Weiterverlauf ist gleichsam gehemmt, ohne daß das Ei selbst abgestorben wäre. Während normalerweise eine Viertelstunde nach der Befruchtung schon die Kopulation der beiden geschlechtlich differenzierten Kerne im Zentrum des Eies vor sich geht, findet man sie jetzt meist noch in weiter Entfernung voneinander. Der Spermakern liegt ganz oberflächlich in der Dotterrinde, von einer nur schwach angedeuteten Strahlung umgeben, die Lage des Eikerns scheint sich nicht verändert zu haben und ist, wie im unbefruchteten Ei, bald eine zentrale, bald eine periphere.

Der lähmungsartige Zustand, in welchen wir die Eizellen versetzt sehen, ist von längerer Dauer. Selbst $1^1/_4$ Stunde nach geschehener Befruchtung ist in weitaus den meisten Fällen noch keine Kopulation der Kerne erfolgt. In der Regel bietet sich folgender Befund dar. Der Eikern ist jetzt mehr nach der Mitte des Eies gerückt. Um ihn ist eine körnchenfreie, häufig oval gestaltete Stelle im Dotter entstanden (Taf. II, Fig. 6); neben ihm oder in einiger Entfernung von ihm, doch fast stets im Bereich des körnchenfreien Protoplasma befindet sich der Spermakern, welcher gegen früher um ein mehrfaches an Größe zugenommen hat, aber auch dementsprechend sich weniger intensiv mit Karmin färbt. Häufig hat sich um ihn ein kleiner, scharf konturierter mit Flüssigkeit erfüllter Raum gebildet.

Wenn Ei- und Spermakern aneinander gerückt sind, treten in ersterem (Taf. II, Fig. 8) chromatische Körnchen, die für gewöhnlich nicht deutlich gemacht werden können, in streifenartiger Anordnung hervor, während der größte Teil des Kerngerüstes achromatisch ist.

Die in einer Vacuole (Taf. II, Fig. 8) eingeschlossene Substanz des Spermakerns läßt eine körnige und fadenartige Beschaffenheit erkennen und scheint auch aus chromatischen und achromatischen Teilen zusammengesetzt zu sein.

Dies führt zum Verständnis einiger Eier, bei welchen schon weiter gehende Veränderungen an den Kernen eingetreten sind. In ihnen ist der Eikern als kugliger Körper verschwunden, an seiner Statt wird ein Streifen chromatischer, hufeisenförmig gekrümmter Fäden und in ihrer unmittelbaren Nähe der vergrößerte Spermakern, sowie zwischen beiden eine Dotterstrahlung wahrgenommen (Taf. II, Fig. 9). In einem Falle (Fig. 10) war neben der ersten in einiger Entfernung noch eine zweite Strahlung zu sehen.

Daran schließt sich alsdann wohl der folgende Befund an, daß beide Kerne als solche sich verändert haben. In Fig. 13, Taf. II sieht man neben einer gut ausgebildeten Dotterstrahlung jederseits zwei Ansammlungen chromatischer Substanz. Die eine besteht aus feinen Fäden und Schlingen und ist aus dem Eikern hervorgegangen, die andere kann wohl nur vom Spermakern abstammen, sie ist ein unregelmäßiges Klümpchen von Chromatin, das nach der Dotterstrahlung zu in mehrere Zacken ausgezogen ist.

Eine dritte Portion von Eiern, die noch später nach der Befruchtung abgetötet worden war, zeigte ein Gemisch verschiedener Zustände. In einigen Fällen waren Ei- und Spermakern immer noch vorhanden; letzterer war dabei zu einem ziemlich umfangreichen Bläschen mit einer darin gelegenen Chromatinkugel vergrößert. In anderen Fällen fanden sich an ihrer Stelle zwei Haufen von Chromatinkörnchen nahe bei einander in eine zuweilen ausgedehnte Strahlung des Dotters eingehüllt. Beide Kerne hatten also begonnen, sich in Fäden zu differenzieren, ohne daß vorher eine Verschmelzung zwischen ihnen stattgefunden hätte.

Erst $2\frac{1}{2}$ Stunde nach Vornahme der Befruchtung sahen wir bei Untersuchung des frischen Materials vereinzelte Eier im Beginn der Teilung. Dieselbe verlief selten ganz normal. Häufig lag die Teilungsspindel etwas exzentrisch. Die Teilungsstücke wurden von ungleicher Größe. Ab und zu beobachteten wir auch Eier, welche gleich in 4 Stücke zerlegt wurden.

b. Eier 20 Minuten auf 31° Celsius erwärmt.

Wenn die Erwärmung der Eier auf 25° Reaumur 20 Minuten dauerte, so wurde beim Zusatz von Samen eine noch größere Überfruchtung als im vorher dargestellten Fall hervorgerufen. Um den Grad der Überfruchtung richtig abschätzen zu können, sind wir in der Weise verfahren, daß wir an Kanadabalsampräparaten an einer Summe neben einander gelegener Eier die Anzahl der eingedrungenen Spermatozoen bei starker Vergrößerung bestimmt und daraus das Mittel gezogen haben. Das Resultat zweier Zählungen stellen wir in 2 Tabellen zusammen.

I. Tabelle.

Ei	1	mit	1	Spermakern,
„	2	„	1	„
„	3	„	3	„
„	4	„	2	„
„	5	„	3	„
„	6	„	3	„
„	7	„	1	„
„	8	„	2	„
„	9	„	1	„
„	10	„	1	„
„	11	„	2	„
„	12	„	1	„
„	13	„	2	„
13 Eier		mit	23	Spermakernen.

II. Tabelle.

Ei	1	mit	3	Spermakernen.
„	2	„	2	„
„	3	„	2	„
„	4	„	1	„
„	5	„	3	„
„	6	„	2	„
„	7	„	2	„
„	8	„	1	„
„	9	„	3	„
„	10	„	1	„
10 Eier		mit	20	Spermakernen.

Es war demnach jetzt nur der kleinere Teil der Eier einfach befruchtet worden, in dem größeren Teil waren entweder zwei oder drei Spermatozoen nachzuweisen. In ganz vereinzelten Fällen ließen sich auch 4 oder selbst 5 Spermakerne im Dotter auffinden.

In Tabelle I sind 23 Spermatozoen in 13 Eier und in Tabelle II deren 20 in 10 Eier eingedrungen. Bei gleichmäßiger Verteilung der Spermakerne würden auf jedes Ei etwa 2 kommen.

Die Eier waren zum Zweck genauerer Untersuchung in 3 Portionen abgetötet worden, eine Portion $\frac{1}{4}$ Stunde nach Befruchtung, eine zweite Portion $1\frac{1}{4}$ Stunde und eine dritte Portion noch später.

Nach einer Viertelstunde liegt der Eikern meist peripher, die eingedrungenen Spermatozoen befinden sich durchschnittlich noch

in der Dotterrinde und vom Eikern weit entfernt und haben im Protoplasma gar keine oder nur eine wenig auffällige Strahlenbildung hervorgerufen.

Nach $1\frac{1}{4}$ Stunde ist der Eikern als solcher bei einem kleineren Teil der Eier unsichtbar geworden; wo er noch vorhanden ist, findet er sich mehr im Innern des Dotters (Taf. II, Fig. 7) und ist von einer größeren körnchenfreien Protoplasmamenge umschlossen, in deren Bereich auch die eingedrungenen Spermakerne gewöhnlich vom Eikern ein wenig entfernt liegen. Einzelne können auch noch in der Dotterrinde verweilen. An Größe haben sie um ein mehrfaches zugenommen.

An den Eiern, deren Eikern nicht mehr sichtbar ist, sind Strahlungen in der verschiedensten Weise gebildet und meist exzentrisch gelegen, wie wir an 3 Beispielen erläutern wollen. In Fig. 14, Taf. II ist eine nierenförmige, ziemlich ausgedehnte Strahlung, in deren Mitte achromatische Fäden liegen. Außerhalb der Strahlung an entgegengesetzten Seiten derselben sind zwei Spermakerne, deren chromatische Substanz in einen Faden ausgezogen ist, von welchem sich Körnchen abzulösen scheinen. In einem anderen Präparat (Taf. II, Fig. 16) findet sich exzentrisch im Ei ein Triaster, drei durch Spindeln verbundene Strahlungen und in der Mitte derselben ein Streifen chromatischer Körnchen. Im dritten Ei sind an 2 getrennten Stellen der Dotterrinde Kernfiguren in Entwicklung begriffen. An einer Stelle ist eine ziemlich wohl entwickelte Spindel zu sehen, an der anderen Stelle eine Doppelstrahlung mit einem Haufen Chromatinkörnchen und nahe dabei ein in körnigem Zerfall begriffener Spermakern.

Die dritte Portion der konservierten Eier bietet uns ebenfalls ein Gemisch verschiedenartiger Bilder dar. Bald ist der Eikern noch erhalten und von mehr oder weniger zahlreichen Spermakernen umgeben (Taf. II, Fig. 12), bald ist er nicht mehr sichtbar, und unregelmäßige, kleine Haufen chromatischer Substanz finden sich an einer oder an mehreren Stellen im Dotter in einer körnchenfreien Umgebung; bald sind ein oder mehrere Strahlungen entstanden mit unregelmäßig verteilten Chromatinkörnchen. In einem Präparat waren 5 Strahlungen vorhanden mit einer zentralen in 3 Spitzen ausgezogenen Ansammlung gedrängt zusammenliegender Chromatinkörnchen.

$2\frac{1}{2}$ Stunde nach der Befruchtung beginnt hier und da die Teilung in etwas gestörter Weise. Andere Eier zeigen im Innern

verwickelte Mehrfachstrahlungen auch im lebenden Zustand und später unregelmäßige Einschnürungen der Oberfläche.

c. Eier 45 Minuten auf 31° Celsius erwärmt.

Bei Zusatz des Sperma hebt sich die Eihaut noch sofort ab, Befruchtungshügel bilden sich nicht mehr oder nur in einer wenig auffälligen Weise. Infolge der länger andauernden Erwärmung ist ein noch höherer Grad der Überfruchtung als in dem vorhergehenden Versuch erzielt worden, wie sich aus beifolgender Tabelle von Eiern ergiebt, die teils ¼, teils ½ teils ¾ Stunde nach der Befruchtung abgetötet wurden.

Ei	1	mit	5	Spermakernen.
„	2	„	3	„
„	3	„	3	„
„	4	„	4	„
„	5	„	4	„
„	6	„	5	„
„	7	„	3	„
„	8	„	5	„
„	9	„	3	„
„	10	„	4	„
„	11	„	3	„
„	12	„	3	„
„	13	„	5	„
„	14	„	2	„
„	15	„	4	„
15 Eier		mit	56	Spermakernen.

Normal befruchtete Eier sind bei länger fortgesetzter Erwärmung nicht mehr anzutreffen, selten sind zweifach befruchtete, die meisten enthalten 3 bis 4 Spermakerne, nicht wenige auch deren fünf. In 15 Eier sind zusammen 56 Samenfäden eingedrungen. Bei gleichmäßiger Verteilung der Spermakerne würden etwa 3 bis 4 auf jedes Ei kommen. Entweder finden sie sich eine Viertelstunde nach der Befruchtung über die ganze Eioberfläche verteilt, oder sie sind dicht bei einander eingedrungen und sind dann in einen oder zwei Haufen zusammengedrängt. Zu einer stärker ausgeprägten Strahlenbildung, zu einer Furchung oder auch nur zu einer unregelmäßigen Zerklüftung kam es bei diesem Material

nicht mehr. An Eiern, die 6 Stunden nach der Befruchtung zu späterer Untersuchung abgetötet wurden, hatten sich indessen an den Kernen noch einige wahrnehmbare Veränderungen vollzogen. Der Eikern war in der größeren Anzahl der Objekte geschwunden. Im Dotter fanden sich mehrere 2, 3 bis 4 meist oberflächlich und in einer kleinen körnchenfreien Stelle zusammenliegende Chromatinflecke, die von vergrößerten Spermaköpfen abzuleiten sind, oder es kamen unregelmäßig gestaltete, zuweilen länglich ausgezogene Chromatinflecke zerstreut in der Dotterrinde vor. Am lebenden Material nahm man dementsprechend körnchenfreie Stellen in der Doterrinde wahr, die auch eine schwach angedeutete strahlige Anordnung des Protoplasma zeigten.

d. Eier 1 Stunde auf 31° Celsius erwärmt.

Das Resultat war ziemlich das gleiche, wie im vorausgehenden Fall. Beim Zählen der eingedrungenen Spermatozoen an den mit Boraxkarmin gefärbten Eiern war der Umstand störend, daß sich infolge der länger andauernden Erwärmung im Dotter eine kleine Anzahl von kugligen Körnchen gebildet hatte, welche etwa die Größe von Spermakernen besaßen und sich auch färbten. Indessen war eine Unterscheidung möglich, indem 1) die Färbung der Spermakerne, was im Farbenbild noch besser hervortritt, eine intensivere ist und 2) die Spermakerne nie so kuglig wie die in Rede stehenden Dottergebilde sind. Wir zählten

Ei	1	mit	6	Spermakernen.
„	2	„	5	„
„	3	„	1	„
„	4	„	4	„
„	5	„	4	„
„	6	„	7	„
„	7	„	4	„
„	8	„	3	„
„	9	„	5	„
„	10	„	2	„
„	11	„	2	„
„	12	„	5	„
12 Eier		mit	48	Spermakernen

Ei	1	mit	2	Spermakernen.
„	2	„	3	„
„	3	„	3	„
„	4	„	5	„
„	5	„	5	„
„	6	„	2	„
„	7	„	5	„
„	8	„	3	„
„	9	„	4	„
„	10	„	6	„
„	11	„	4	„
„	12	„	6	„
„	13	„	5	„
„	14	„	3	„
„	15	„	2	„
			58	

Forts. auf S. 101

Transport			58	Spermakerne
Ei	16	mit	8	„
„	17	„	5	„
„	18	„	2	„
„	19	„	4	„
„	20	„	4	„
20 Eier		mit	81	Spermakernen.

Die meisten Eier enthalten jetzt 3, 4 oder 5 Spermatozoen, doch finden sich auch solche, in welche 7 oder 8 eingedrungen sind. Bei 2 Zählungen ergab sich, daß einmal in 12 Eiern 48 Spermakerne, das andere Mal in 20 Eiern 81 Spermakerne nachzuweisen waren. Im Durchschnitt kamen also hier auf jedes Ei 4 Spermatozoen. Dieselben fanden sich am häufigsten zerstreut und oberflächlich in einem kleinen hellen Hof, selten in größerer Anzahl um den exzentrisch gelegenen Eikern gruppiert in einer körnchenfreien Zone. Nach 5 und einer halben Stunde war gewöhnlich der Eikern verschwunden und es fanden sich im Dotter eine oder mehrere Strahlungen zentral oder superfiziell. In ihnen lagen 2, 3 oder 4 zu Gruppen vereinte Spermakerne (Taf. II, Fig. 19). Einen Rest des Eikerns möchten wir in einem sich vom Dotter etwas absetzenden, sich nicht färbenden Haufen körniger Substanz sehen, der zuweilen von Spermakernen umschlossen in einer Strahlung angetroffen wurde.

In anderen Fällen waren die Spermakerne im Dotter isoliert und zerstreut.

Teilungen wurden auch an diesem Material nicht beobachtet.

e. Eier $1\frac{1}{2}$ Stunden auf 31° Celsius erwärmt.

Die Eier waren noch nicht abgestorben, aber in ihrer Lebensenergie in noch höherem Grade, als im vorausgehenden Fall geschädigt, wie sich aus dem Verlauf der Befruchtung schließen ließ. Es drangen wieder mehrere Spermatozoen und zwar am häufigsten 3 bis 4 in ein Ei ein. Es erfolgte aber keine Reaktion von Seiten des Protoplasma; um die Spermakerne bildete sich keine Strahlung, kein körnchenfreier Hof, weder am Anfang des Eindringens, noch im weiteren Verlauf. Die Spermakerne blieben in der Eirinde eingeschlossen, so daß eine Verschmelzung oder Anlagerung an den Eikern nicht eintrat; ferner vergrößerten sie sich nicht durch Imbibition mit Kernsaft. Es bieten daher Eier, die man $\frac{1}{2}$ Stunde und solche, die man 5 Stunden nach der Befruchtung abgetötet hat, einen wenig verschiedenen Anblick dar. Bei letzteren

waren nur die Spermakerne im Durchschnitt ein wenig mehr von der Eioberfläche entfernt. Bei vorgenommener Zählung fand sich:

Ei	1	mit	6	Spermakernen
„	2	„	4	„
„	3	„	3	„
„	4	„	2	„
„	5	„	2	„
„	6	„	4	„
„	7	„	4	„
„	8	„	4	„
„	9	„	3	„
„	10	„	3	„

In 10 Eiern konnten also 35 Spermakerne gezählt werden. Das Mittel ergiebt 3 bis 4 Spermakerne in einer Eizelle. Gegen die Serie d wäre eine geringe Abnahme im Grade der Überfruchtung zu konstatieren.

Zweite Versuchsreihe.

Eier, 5 Minuten in Wasser von verschieden hoher Temperatur erwärmt.

Wasser von 55° Celsius bewirkt rasche Abtötung der Eier. Wenn dieselben nur während 5 Minuten darin erwärmt werden, so bedecken sie sich schon auf ihrer ganzen Oberfläche mit hervorquellenden Eiweißtropfen und verändern total ihr Aussehen und ihr inneres Gefüge.

Von diesem Stadium ausgehend haben wir sich das Wasser allmählich abkühlen lassen und bei 14 verschiedenen Temperaturgraden Reagensröhrchen mit Eiern während 5 Minuten erwärmt. Sofort nach der Herausnahme wurde das Eiquantum im Uhrschälchen befruchtet, die jetzt eintretenden Veränderungen wurden an einer kleinen Probe, die auf einem Objektträger mit einem Deckgläschen vorsichtig bedeckt wurde, bei starker Vergrößerung verfolgt und in's Tagebuch notiert. Da diese Versuchsserie nicht in Pikrinessigsäure konserviert wurde, konnte ein genaueres Studium der inneren Vorgänge hier nicht Platz greifen. Wir beschränken uns daher darauf, die Tagebuchnotizen mitzuteilen.

Erster Versuch.

Ein Röhrchen mit Eiern wurde während 5 Minuten in Wasser von 50 Grad Celsius erwärmt. Aus dem Dotter waren jetzt

keine Eiweißtropfen mehr ausgetreten. Bei Vornahme der Befruchtung bewegten sich die Spermatozoen mit Lebhaftigkeit im Wasser, schienen aber in das Ei nicht einzudringen, da die Dotterhaut sich nicht abhob und kein Befruchtungshügel gebildet wurde.

Zweiter Versuch.

Erwärmung der Eier während 5 Minuten bei 47° Celsius. Infolge derselben hatten sich keine Eiweißtropfen gebildet. Bei Zusatz von Sperma wurde die Dotterhaut nicht abgehoben und kein Befruchtungshügel hervorgerufen. Indessen bedeckten sich noch jetzt nachträglich einige Eier mit Eiweißtropfen und wurden in ihrem inneren Gefüge verändert.

Dritter Versuch.

Erwärmung der Eier bei 45° Celsius 5 Minuten. Das Resultat dasselbe wie oben. Auch jetzt fand eine nachträgliche Verquellung bei einer kleinen Anzahl von Eiern nach Vornahme des Spermazusatzes statt.

Vierter und fünfter Versuch.

Erwärmung bei 42 resp. bei 41° Celsius 5 Minuten. Eier ohne Verquellung. Dotterhaut nicht abgehoben.

Sechster Versuch.

Erwärmung bei 39° Celsius 5 Minuten. Jetzt wurde bei einem Teil der Eier die Eihaut ein wenig abgehoben, was als Folge des Eindringens von einem oder mehreren Spermatozoen aufgefaßt werden muß. Weitere Veränderungen konnten indessen nicht wahrgenommen werden. Am anderen Tage waren die Eier in Zerfall begriffen ohne Anzeichen einer stattgefundenen Entwicklung.

Siebenter Versuch.

Erwärmung bei 37° Celsius 5 Minuten. Die Eihaut hob sich bei einigen Eiern deutlich, bei andern weniger deutlich ab Zahlreiche Befruchtungshügel, deren zuweilen zehn gezählt werden konnten, bedeckten die Oberfläche des Dotters an verschiedenen Punkten. Sie waren breit und hoch und wurden langsam unter Veränderung ihrer Form wieder in den Dotter aufgenommen.

Achter und neunter Versuch.

Erwärmung bei 36 resp. 55° Celsius 5 Minuten. Die Eihaut hob sich überall wie bei normaler Befruchtung ab und es

bildeten sich fast an jedem Ei mehrere breite und hohe Befruchtungshügel. Indessen erfolgte keine normale Weiterentwicklung. Weder bildeten sich Strahlungen im Dotter, noch kam es zur Teilung. Am anderen Tag waren die Objekte abgestorben und zerfallen.

Zehnter und elfter Versuch.

Erwärmung bei 34 resp. 32 ° Celsius. Es erfolgte Abhebung der Eihaut. Ein oder zwei Befruchtungshügel waren nachweisbar. Die Eier entwickelten sich zum Teil in unregelmäßiger Weise weiter. Nach 4 Stunden beobachteten wir spärliche Zweiteilungen, wobei die Teilstücke häufig von sehr ungleicher Größe waren, bei anderen waren mehrere höckerartige Knospen entstanden; der größte Teil der Eier zeigte im Innern nur undeutliche Strahlung, Hantelfiguren, Tetraster oder Triaster oder ließ den Kern als eine verwaschene helle Stelle erkennen. Am anderen Tag fanden sich unter einer größeren Zahl zerfallener Eier nicht wenige normal entwickelte Blastulae vor; andere waren mißgebildet zu Flimmerlarven, in deren Innerem sich anstatt Gallerte kleinere und größere glänzende Kügelchen vorfanden.

Zwölfter Versuch.

Erwärmung bei 31 ° Celsius während 5 Minuten. Die Befruchtung erfolgte anscheinend normal. Nach einigen Stunden teilten sich die Eier in 2, seltener in 4 oder 3 oder 6 Stücke. Die Strahlung vor und während der Teilungsstadien war schwächer als normal. Am andern Tag schwammen meist normal gebildete Blastulae in den Zuchtgläsern herum. Eine geringe Anzahl von Flimmerlarven war monströs entwickelt.

Fassen wir das Ergebnis aus dieser Versuchsserie zusammen, so ist dasselbe im allgemeinen ein ähnliches, wie dasjenige der ersten Serie. Wie dort verlängerte Wärmewirkung, so wirkt hier kurz vorübergehende Wärme, je intensiver dieselbe ist, um so mehr störend auf den Befruchtungsvorgang ein. Bei Temperaturen bis zu 31 ° Celsius, wenn sie nur während 5 Minuten einwirken, ist der Befruchtungsvorgang normal. Bei 32 bis 36 ° Celsius erfolgt Überfruchtung in steigender Progression mit Abhebung der Eihaut. Bei 37 ° Celsius ist die Überfruchtung eine sehr beträchtliche, wobei zugleich infolge beginnender Wärmestarre des Protoplasma die Eihaut sich ein wenig abzuheben beginnt. Bei 39 bis 47 ° Celsius scheint Befruchtung auszubleiben, da sich die Eihaut nicht mehr

abhebt und keine Befruchtungshügel entstehen. Bei höheren Temperaturen beginnt der Dotter zu verquellen und in seiner Struktur in wahrnehmbarer Weise geschädigt zu werden.

Drittes Kapitel.

Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch mechanische Insulte.

Es ist eine bekannte Erscheinung, daß die Protoplasmabewegung verlangsamt oder vorübergehend, wenn nicht dauernd aufgehoben wird, wenn eine Zelle erschüttert oder gequetscht, oder in irgend einer anderen Weise mechanisch verletzt wird. Um nun auch in dieser Weise die Befruchtungserscheinungen zu beeinflussen, wurde eine größere Quantität Eier in einem mit Meerwasser halb gefüllten Reagensröhrchen zwanzig bis dreißig Minuten lang sehr heftig geschüttelt, so daß sich die Flüssigkeit milchig trübte, weil sich die Gallerthüllen von der Dotterhaut ablösten. Infolge der heftigen Erschütterungen wurden einige Eier verletzt, indem die Dotterhaut hie und da platzte und protoplasmatischer Inhalt aus dem Riß austrat. Das entleerte Protoplasma nahm gewöhnlich sofort Kugelgestalt an und war entweder mit der Eizelle durch einen breiten Stiel verbunden oder bildete einen selbständigen, bald größeren, bald kleineren kugeligen Körper für sich. Zuweilen war auch der Eikern in das ausgetretene Protoplasma mit hineingeraten. Der weitaus größte Teil der Eier aber blieb bei der angegebenen Behandlung, da die Hülle ziemlich fest und elastisch ist, vollkommen unverletzt, abgesehen von der Abstreifung der Gallerte.

Was geschieht nun, wenn ein derartiges Eimaterial sofort nach stattgehabter Erschütterung befruchtet wird?

Wir untersuchten diese Frage sowohl am lebenden Objekt, als auch an Eiern, die auf 3 verschiedenen Stadien in Pikrinessigsäure eingelegt worden waren. Ein Teil war 20 Minuten, ein zweiter 1 Stunde und ein dritter $\frac{3}{4}$ Stunde nach der Befruchtung abgetötet worden.

Es verdient gleich am Anfang hervorgehoben zu werden, daß trotz der hochgradigen Erschütterung bei dem größten Teil der

Eier normale Befruchtung erfolgte. Die Eihaut hob sich scharf ab, nur ein Samenfaden drang in den Dotter ein und umgab sich mit einer ausgeprägten Strahlenbildung; in der normalen Zeit erfolgte die Kopulation der Kerne, die Spindelbildung und Teilung. Nur darin unterschieden sich die Eier von solchen, die nicht geschüttelt worden waren, daß ihrer Eihaut keine Samenfäden aufsaßen, weil die Gallerte abgelöst war.

Bei einem kleineren Teil indessen und namentlich bei allen den Eiern, welche infolge des Schüttelns eine Verletzung erlitten hatten, zeigten sich pathologische Erscheinungen. Dieselben lassen sich in zwei Gruppen sondern, je nachdem die Samenfäden in größerer Anzahl 1) in ein Ei oder 2) in einen abgesprengten kernlosen Teil eines Eies eingedrungen waren.

1) Eier mit mehr als 1 Samenfaden.

In solche Eier, welche durch das Schütteln gelitten hatten, was sich schon äußerlich dadurch bemerkbar machen konnte, daß sich durch einen Riß in der Umhüllung Protoplasmateile abgelöst hatten, drangen zwei, drei und mehr Spermatozoen von verschiedenen Stellen aus ein. Bei ihrem Eintritt hob sich die Dotterhaut nur wenig oder gar nicht vom Protoplasma ab. Es bildeten sich Spermakerne, die von einer ausgeprägten Strahlung umhüllt waren und in verschiedener Zahl mit dem Eikern kopulierten. Je nachdem entstanden mannichfache Kernformen, welche den durch Nikotinbehandlung hervorgerufenen entsprachen. So fanden wir öfters einen wohl durch das Eindringen zweier Samenfäden hervorgerufenen Tetraster. Vier den Ecken eines Quadrats entsprechende Strahlungen sind durch 4 Spindeln verbunden und umschließen 2 Streifen von Chromatinkörnchen, die ein Kreuz darstellen, dessen Schenkel mit ihren Enden auf die Mitte je einer Spindel treffen.

Eine modifizierte Form der Vierstrahlung, die wir auch schon bei anderer Gelegenheit (Tafel I Figur 10) beschrieben haben, ist uns auch hier wieder begegnet. Es stoßen drei Spindeln in 3 Strahlungen zusammen. Die in ihrer Mitte verteilten Chromatinkörnchen bilden die Form eines Y. Eine vierte Spindel geht von einer Strahlung des Triasters noch zu einer isoliert gelegenen Strahlung und ist in ihrer Mitte auch wieder mit Chromatinkörnchen versehen.

Auch komplizierter gebaute Kernfiguren kamen zur Beobachtung. In einem Falle war mit einem Tetraster noch eine fünfte

Strahlung verbunden. Außerdem fanden sich im Dotter noch drei isolierte Spermakerne, welche an Größe bedeutend zugenommen hatten. Sie stellten mit Kernsaft gefüllte, ovale Bläschen dar, in deren Mitte ein rot gefärbter Chromatinkörper, gleichsam ein Nucleolus, eingeschlossen war. An den beiden Polen des Ovals waren 2 Strahlensysteme entstanden. Aus jedem eingedrungenen Spermatozoon war somit auf einem weiter vorgerückten Stadium ein Spermaamphiaster hervorgegangen.

Wenn 2 Stunden nach der Befruchtung die Teilung beginnt, kann man wieder die verschiedensten Zustände beobachten, Eier, die anstatt in zwei gleich in 4, 5 oder 6 Stücke zerfallen, oder die sich auf ihrer Oberfläche mit kleineren und größeren Körpern bedecken, welche sich erst successive selbständig machen.

Übrigens ist es keineswegs eine Notwendigkeit, daß, wenn ein Ei verletzt ist, nun auch mehrere Samenfäden eindringen. Nicht selten haben wir auch Eier gesehen, die, obwohl ihrer Oberfläche ein hervorgequollener Protoplasmahöcker aufsaß, im Innern nur eine Spermastrahlung oder auf einem späteren Stadium nur eine Spindel zeigten. Es kann ein Ei sogar sehr bedeutende Substanzverluste erlitten haben und auf die Hälfte oder ein Drittel seines Volums reduziert worden sein, ohne deshalb, wenn es durch ein Spermatozoon allein befruchtet worden ist, seine normale Entwicklungsfähigkeit eingebüßt zu haben. So haben wir Zwergeier sich regulär teilen und sich zu außerordentlich kleinen Gastrulae umbilden sehen.

2) Abgesprengte Teile eines Eies.

Bei der Untersuchung des Einflusses, welchen mechanische Mittel auf die Eier ausüben, haben wir auch die interessante Erscheinung kennen gelernt, daß abgesprengte kernlose Protoplasmateile des Eies in Meerwasser noch eine gewisse Lebensfähigkeit geraume Zeit bewahren und daß die Spermatozoen sich in dieselben nicht minder als in die intakten Eier einbohren. Wenn man zehn Minuten nach Vornahme der Befruchtung sein Augenmerk auch auf die Eifragmente richtet, so wird man in ihnen je nach ihrer Größe 1, 2 oder mehr sehr deutlich ausgeprägte Strahlungen Taf. II Fig. 17 beobachten können. In einem Falle zählten wir deren sieben. Dieselben erhielten sich in der Weise längere Zeit. Die Eifragmente hatten sich dabei mit einer zarten, dem Protoplasma dicht aufliegenden Hülle umgeben. Bei Untersuchung

mit Reagentien und an Tinktionspräparaten läßt sich in jeder Strahlung ein kleiner Spermakern nachweisen.

Nach einer und weiterhin noch nach 1½ Stunden haben die Spermastrahlungen Veränderungen erfahren. Sie haben sich in kleine Doppelstrahlungen umgewandelt. Weiteren Aufschluß geben Tinktionspräparate. Die Spermakerne, welche sich ein wenig vergrößert haben, sind oval oder spindelig geworden und zeigen an beiden Enden eine kleine Spitze aus einer sich in Karmin nicht färbenden Substanz, welche wie die Polsubstanz bei der Kernteilung die Mitte je einer der Doppelstrahlungen einnimmt (Taf. II Fig. 15). Außer diesen im Plasma regellos verteilten Amphiastern, deren wir in einem Fall drei zählten, können neben ihnen auch noch isolierte Strahlungen (Fig. 15 *a*) vorkommen, die dadurch bemerkenswert sind, daß in ihnen sich keine färbbaren Körper oder kernartigen Bestandteile nachweisen lassen.

Nach Ablauf von 1½ bis 2 Stunden ist an den Spermaamphiastern noch eine faserige Metamorphose eingetreten, zu deren Illustration Taf. II Fig. 18 diene. Sie zeigt uns vier aus wenigen achromatischen Fasern zusammengesetzte Spindeln, von welchen eine mit ihrer Längsaxe senkrecht zur Sehaxe des Beobachters gestellt ist. In der Mitte jeder Faserspindel liegt die färbbare Substanz als ein einziges, größeres, rundliches oder ovales Korn.

Was später aus diesen befruchteten Eifragmenten ohne Eikern wird, ist nicht weiter verfolgt worden. Wahrscheinlich werden sie nach einiger Zeit absterben und zerfallen.

Anmerkung: Der Schluß der Arbeit, bestehend aus einem allgemeinen Teil, folgt im nächsten Heft.

Tafelerklärung.

Für Tafel III—VI gelten folgende Bezeichnungen:

β	Chloralbehandlung	1	Minute	nach Besamung
γ	„	$1\frac{1}{2}$	Minuten	„ „
δ	„	5	„	„ „
ε	„	15	„	„ „

Die beigefügten Zahlen beziehen sich auf die Zeit, welche zwischen Besamung und Konservierung des Materials verflossen war.

β^1 abgetötet nach 30 Min.	γ^1 35 Min.	δ^1 35 Min.	ε^1 35 Min.
β^2 „ „ 55 „	γ^2 60 „	δ^2 60 „	ε^2 60 „
β^3 „ „ 90 „	γ^3 150 „	δ^3 185 „	ε^3 210 „
β^4 „ „ 150 „	γ^4 255 „	δ^4 325 „	ε^4 240—300 „
β^5 „ „ 190 „	γ^5 325 „		
β^6 „ „ 360 „			

Tafel I.

Fig. 1—5. Eier von Strongylocentrotus lividus, die in einer Nicotinlösung (1 Tropfen Extrakt auf 200 Wasser) 10 Minuten gelegen, mit Samen befruchtet und darauf in verschiedenen Intervallen abgetötet worden sind. Bei Vergrößerung F. Oc. 1 (Zeiß) gezeichnet und etwas verkleinert.

Fig. 1 und 2. Die Eier wurden 15 Minuten nach Vornahme der Befruchtung abgetötet.

Fig. 3. Das Ei wurde 40 Minuten nach Vornahme der Befruchtung abgetötet.

Fig, 4. Eine Stunde, 20 Minuten nach der Befruchtung abgetötet.

Fig. 5. Zwei Stunden 10 Minuten nach der Befruchtung abgetötet.

Fig. 6—10. Kernfiguren von Eiern, die in einer Nikotinlösung (1 Tropfen Extrakt auf 400 Wasser) 15 Minuten gelegen, befruchtet und nach 1 Stunde 30 Minuten abgetötet worden sind. Bei Vergrößerung F. Oc. 2 (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 11. Spermakerne überfruchteter Eier, *a*, *b*, *c*, *d*, die in einer Nikotinlösung (1 Tropfen Extrakt auf 100 Wasser) gelegen ha-

ben, befruchtet und nach Ablauf mehrerer Stunden abgetötet worden sind, in Umbildung zu Spermaspindeln. Bei Vergrößerung. 1./18. Homogene Immersion. Oc. $2\frac{1}{2}$ (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 12. Kernfiguren von einem Ei, das 5 Minuten in einer Nikotinlösung (1 Tropfen Extrakt auf 200 Wasser) gelegen hat, befruchtet und nach 2 Stunden abgetötet worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 13. Mehrfach befruchteter Kern, der sich zur Umbildung in einen Spindelkomplex anschickt.

Fig. 14. Kernfigur eines Eies, das 10 Minuten in einer Nikotinlösung (1 : 200) gelegen hat, befruchtet und nach 3 Stunden 10 Minuten abgetötet worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 15. Kernfigur eines Eies, das wie oben behandelt und nach 3 Stunden abgetötet worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 16—18. Kernfiguren von Eiern, die 15 Minuten in einer Nikotinlösung (1 : 400) gelegen haben, befruchtet und nach 2 Stunden 45 Minuten abgetötet worden sind. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet und etwas verkleinert.

Fig. 19. Kernfiguren eines Eies, das in einer Nikotinlösung (1 : 100) gelegen hat. Sie bestehen aus einem Spindelkomplex und 5 einzelnen in Teilung begriffenen Spermaspindeln.

Fig. 20. Kernfiguren eines Eies, das in einer Nikotinlösung (1 : 200) 10 Minuten gelegen hat, befruchtet und nach 3 Stunden 10 Minuten abgetötet worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 21. Kernfiguren eines Eies, das wie oben behandelt worden ist. Bei Vergrößerung F. Oc. ^{2} (Zeiß) gezeichnet und etwas verkleinert.

Fig. 1

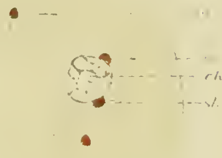
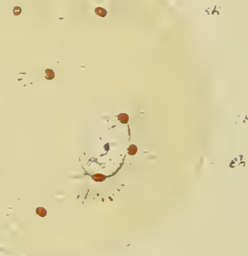


Fig. 2



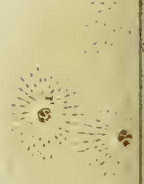


Fig. 6a



Fig. 6.

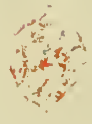


Fig. 7

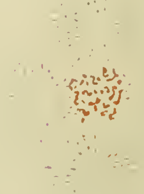




Fig. 12



Fig. 13.



Fig. 14

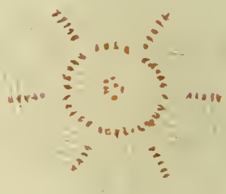
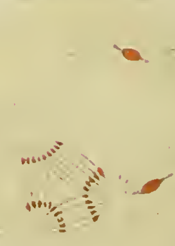




Fig. 17



Fig. 18.



ps



Fig. 4.

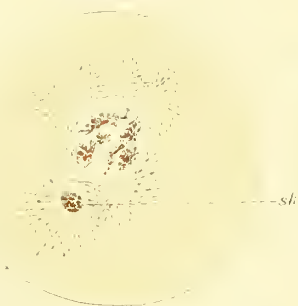


Fig. 5.

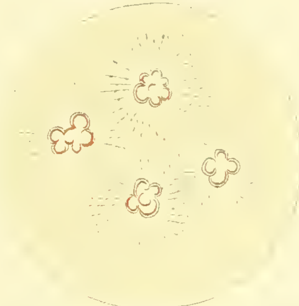


Fig. 9.



Fig. 10.



Fig. 11.



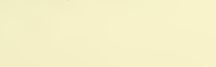






Fig. 15.





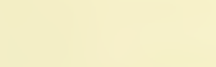












Fig. 16.



Fig. 20.



Fig. 21 a b



Tafel II.

Die meisten Figuren sind bei Vergrößerung F Oc.[2] (Zeiß) gezeichnet und etwas verkleinert. Fig. 8, 9, 10, 12, 13, 14 sind bei $\frac{1}{18}$ Vergrößerung Homogene Imm. Oc. $2\frac{1}{2}$ (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 1. Ein Ei, das 35 Minuten in einer 0,5 % Chlorallösung gelegen hat, einige Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 2. Ein Ei, das 50 Minuten in einer 0,5% Chlorallösung gelegen hat, 2 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 3. Ein Ei, das 5 Minuten in einer 0,5% Chlorallösung gelegen hat, 4 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 4. Ein Ei, das 20 Minuten in einer 0,05% Chininlösung gelegen hat, 6 Stunden nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 5. Ein Ei, das 20 Minuten in einer 0,05% Chininlösung gelegen hat, 3 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 6. Ein Ei, das 10 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, $1\frac{1}{4}$ Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 7. Ein Ei, das 20 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, $1\frac{1}{4}$ Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 8—10. Spermakerne und Eikerne von Eiern, die 10 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurden, 2 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 11. Stück eines Eies, das 15 Minuten in einer 0,025 % Kokainlösung gelegen hat, kurze Zeit nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 12. Kerne eines Eies, das 20 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, 2 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 13. Kernfiguren eines Eies, das 10 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, 2 Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 14. Kernfiguren eines Eies, das 20 Minuten in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, $1\frac{1}{4}$ Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 15. Stück eines Eies, das durch heftiges Schütteln abgesprengt und darauf befruchtet worden ist, 2 Stunden nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 16. Kernfigur eines Eies, das 20 Minuten lang auf 31° Celsius erwärmt wurde, $1\frac{1}{4}$ Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 17. Kleinstes Stück eines Eies, das durch heftiges Schütteln abgesprengt und darauf befruchtet worden ist. 20 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 18. Stück eines Eies, das durch heftiges Schütteln abgesprengt und darauf befruchtet worden ist, 2 Stunden nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 19. Kerne eines Eies, das längere Zeit in Wasser von 31° Celsius erwärmt wurde, mehrere Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 20a und b. Kernfigur eines Eies, das 10 Minuten in einer Nikotinlösung (1 : 200) gelegen hat, 2 Stunden nach Vornahme der Befruchtung abgetötet.

Fig. 21 u. 22. Eier, die $1\frac{1}{2}$ Stunden nach der Befruchtung in 0,05% Chininlösung 20 Minuten gelegen haben, nach 2 Stunden 10 Minuten abgetötet.

Fig. 23. Ei, das in einer 0,05% Kokainlösung 5 Minuten gelegen, 1 Stunde 40 Minuten nach Vornahme der Befruchtung.

Fig. 24. Ein Ei, das $1\frac{1}{2}$ Stunde nach der Befruchtung in einer 0,05% Chininlösung 20 Minuten gelegen hat, nach 2 Stunden 10 Minuten abgetötet.

Fig. 25. Ein Ei, das 1 Stunde nach der Befruchtung, 10 Minuten in einer 0,5% Chlorallösung gelegen hat, nach 3 Stunden abgetötet.

Fig. 1.



Fig. 2.

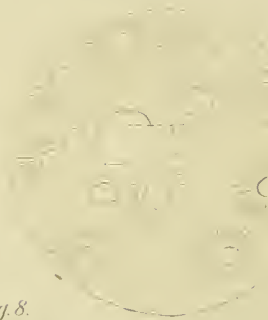


Fig.

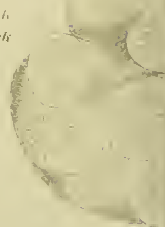


Fig. 8.

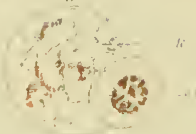


Fig. 11.

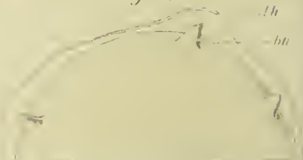


Fig. 6.



Fig. 9.



Fig. 12.

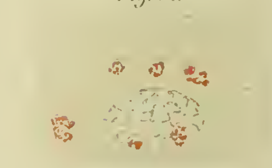


Fig. 7.



Fig. 10.



Fig. 13.



Fig. 21.



Fig. 22.



Fig.



Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 17.

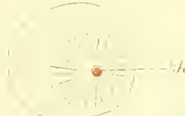


Fig. 20a



Fig. 14.



Fig. 15.



Fig. 18.



Fig. 20b



Fig. 16.



Fig. 19.

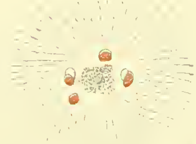


Fig. 25.

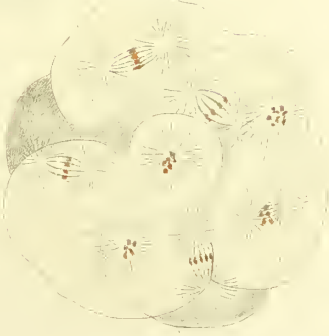
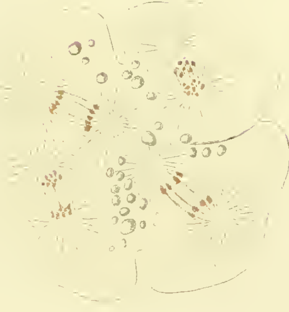


Fig. 24.



Tafel III.

Die Figuren 2, 3, 4 sind bei Vergrößerung Homogene Immersion $\frac{1}{18}$ Oc. 2 $\frac{1}{2}$ (Zeiß), die Figuren 1, 5—10 bei Vergrößerung F. Oc. [2] (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 1—6. Kernfiguren von Eiern, die 1$\frac{1}{2}$ Stunde nach Vornahme der Befruchtung 20 Minuten in einer 0,05 $\frac{0}{0}$ Chininlösung gelegen haben und nach Herausnahme aus der Chininlösung teils nach 1 Stunde, teils nach 2 Stunden abgetötet worden sind.

Fig. 7—11. Kernfiguren von Eiern, die 1 Stunde nach Vornahme der Befruchtung 10 Minuten in einer 0,5 $\frac{0}{0}$ Chlorallösung gelegen haben und nach Herausnahme aus derselben, teils nach $\frac{3}{4}$, teils nach 2, teils nach 3 Stunden abgetötet worden sind.

Fig. 12. Verschiedene Umbildungsstadien des Spermakerns bis zur Ordensternfigur. β^4.

Fig. 13—24 sind bei Vergrößerung $\frac{1}{18}$ homog. Imm. Oc. II (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 13. Vierpoliger Eikern stark vergrößert. Tubus auf 200 mm verlängert. β^4.

Fig. 14—16. Zusammengehörige Ei- und Spermakerne verschiedener Eier in ihren natürlichen Abständen gezeichnet. Fig. 14. β^1. Fig. 15. β^2. Fig. 16. β^3.

Fig. 17. Hälfte eines Eies β^4. Eikern (*o*) in Fächerform vom Fächerende aus gesehen, Spermakern (*sp*) bläschenförmig mit 2 Strahlungen.

Fig. 18. Desgl. Eikern (fälschlich *sp* bezeichnet) in der Umbildung von der Fächerform zur 4 strahligen Gestalt, Spermakern (fälschlich *o* bezeichnet) 3 strahlig.

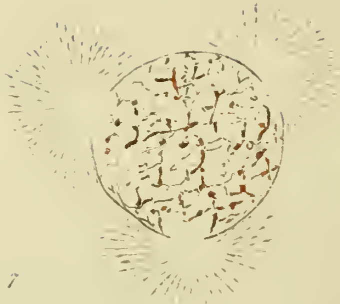
Fig. 19. Desgl. Eikern in vierstrahliger Form; 2 Spermakerne, davon einer mit 3 polständigen Plasmastrahlungen und einer vierten in einiger Entfernung gelegenen Strahlung.

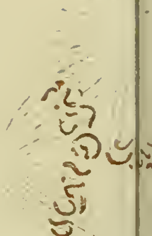
Fig. 20 und 21. Umbildung eines Spermakerns in einen in Windungen gelegten Kernfaden; derselbe schien in Fig. 20 in einzelne U-förmig gekrümmte Teile zerlegt zu sein. β^4.

Fig. 22. Hälfte eines Eies β^5; Eikern und Spermakern in Rosettenform mit polaren Strahlungen.

Fig. 23 und 24. Hälfte eines Eies β^5; 1 Kern wahrscheinlich aus Vereinigung von Ei- und Spermakern entstanden, Strahlungen im Protoplasma unabhängig vom Kern.


Fig. 1.


Fig. 2.


Fig. 3.

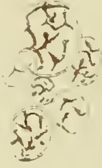

Fig. 6.


Fig. 7.
a
b


Fig. 8.


Fig. 9.



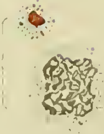
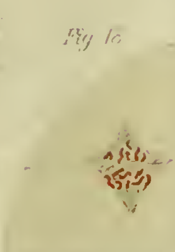

Fig. 14.




Fig. 17.
sp
o


Fig. 16.

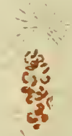



Fig. 22.
sp



Fig. 4.

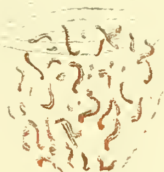


Fig. 5.

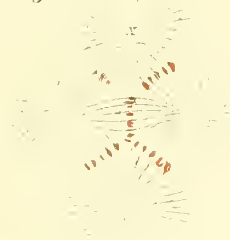


Fig. 10.



Fig. 11.



Fig. 12.



F. 13.

Fig. 16.

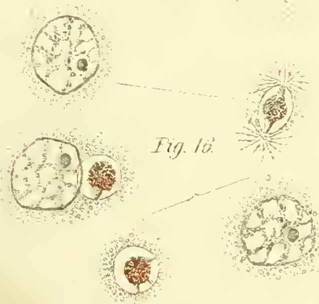


Fig. 19.



Fig. 21.

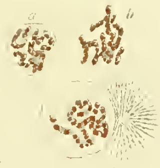
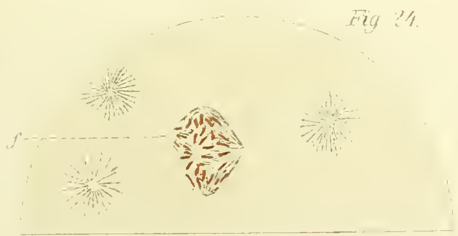


Fig. 24.



…scher …

Tafel IV.

Alle Figuren auf Tafel IV—VII sind bei Vergrößerung Homogene Imm. $\frac{1}{18}$ Oc. 2 (Zeiß) gezeichnet.

Fig. 1. 2 Rosettenkerne (Ei- und Spermakern), der eine mit 3, der andere mit 4 Ecken, von denen 2 einander genähert sind, aus einer Eizelle des Stadium 5 *β*.

Fig. 2. Ei mit 2 Kernen, welche in Umbildung zur Rosettenform begriffen sind. Im Protoplasma sind 4 Strahlungen zu sehen, von denen 3 von den Kernen unabhängig sind, die vierte im Anschluß an einen Kern (Spermakern?) sich entwickelt hat. 5 *β*.

Fig. 3. Ei mit dendritischer Protoplasmafigur, in welcher 2 aus je 3 Kernhaufen bestehende Gruppen eingebettet sind. Endäste der Figur mit Strahlung versehen. Stadium 5 *β*.

Fig. 4. Ein ähnliches Ei mit 2 das eine Mal aus 2, das andere Mal aus 3 Kernen bestehenden Gruppen; nach einer am Meere verfertigten Skizze gezeichnet. Stadium 5 *β*.

Fig. 5. Konjugierte Kerne, *a* in Umbildung zur Rosettenform begriffen, im Protoplasma 2 symmetrische Strahlungen. *b* Konjugation noch nicht zum Abschluß gelangt. Stadium 5 *β*.

Fig. 6. Konjugierte Kerne. *a* 4 polige Rosettenform mit Strahlungen an den Polen, *b* Vorstadium zur 3 poligen Rosettenform, Chromatin zu einer unregelmäßigen Kernplatte angeordnet, *c* Kern granuliert, anscheinend im Begriff durch Einschnürung in 3 Teile zu zerfallen. Bei Ei *c* war ein zweiter Spermakern nachweisbar.

Fig. 7 und 8. Die durch Teilung des Spermakerns und des Eikerns entstandenen Kerne sind im Begriff von neuem zu verschmelzen, in Figur 7 sind so je ein größerer und ein kleinerer Kern entstanden, in Fig. 8 sind auf der einen Seite 2, auf der andern Seite 3 Kerne.

Fig. 9. Die rekonstruierten, zur Fächerform differenzierten Kerne haben je ein kleineres Stück abgespalten. Stad. 6 β.

Fig. 10. Zweimal zwei Kerne aus Teilung und partieller Wiedervereinigung von Spermakern und Eikern entstanden. Stad. 6 β.

Fig. 11. Die rekonstruierten Kerne haben sich in ein großes und ein kleines Stück geteilt. Stad. 6 β.

Fig. 12 und 13. Eikern und Spermakern in Rekonstruktion begriffen. Stad. 5 β und 6 β.

Fig. 14. Rekonstruierter Ei- und Spermakern in chromatischer Metamorphose. Stad. 6 β.

Fig. 15. Rekonstruierter Ei- und Spermakern. Stad. 5 β.

Fig. 16. Rekonstruierter Ei- und Spermakern in chromatischer Metamorphose mit beginnender Strahlung. 6 β.

Fig. 17 und 18. Ei- und Spermakern rekonstruiert und in Fächerform übergeführt; jeder Fächer in mehr oder minder vorgeschrittener Teilung. Stad. 6 β.

Fig. 19. Die aus der Teilung hervorgegangenen Kerne. Stad. 6 β.

Fig. 20. Ei mit Geschlechtskernen, welche in die Rosettenform übergeführt sind, der eine zweipolig mit unvollkommen entwickeltem dritten Pol, der andere 3 polig. Stad. 5 β.

Fig. 1



Fig. 2

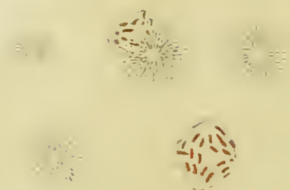


Fig. 5b



Fig. 7



Fig. 9



Fig. 8



Fig. 12



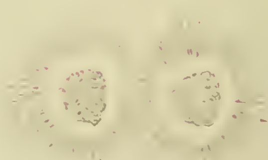
Fig. 14



Fig. 13



Fig. 15



Taf. II.

Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.

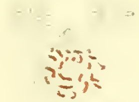


Fig.



Fig. 6b



Fig. 10.

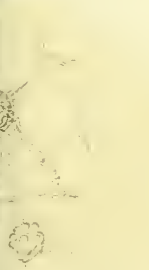


Fig. 11.



Fig. 6c



Fig. 16.



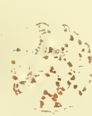


Fig. 18.

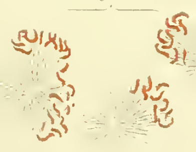


Fig. 20.



Fig. 17.





Fig. 19.



...her ...

Tafel V.

Fig. 1. Verschiedene Umwandlungsformen der Spermakerne. Stadium γ^3.

Fig. 2. 3 Eikerne mit den zugehörigen Spermakernen in Umbildung. Stad. γ^3.

Fig. 3. Ei- und Spermakerne in Pseudotetraster verwandelt. Stad. γ^3.

Fig. 4. Aus Konjugation hervorgegangene Furchungskerne. *a* dreilappig ohne achromatische Faserung, *b* und *c* polyedrisch faserig differenziert. Stad. γ^3.

Fig. 5. Ei- und Spermakerne geteilt in Kernbläschen, welche nunmehr in Rekonstruktion begriffen sind. Stad. γ^3.

Fig. 6. Unvollkommen abgefurchtes Ei aus Stad. β^5.

Fig. 7. 2 mit 3 chromatisch differenzierten Kernen ausgerüstete Eier zur Hälfte dargestellt. Stad. β^5.

Fig. 8. 2 aus einem Ei stammende faserig differenzierte Kerne (wahrscheinlich aus Rekonstruktion von Ei- und Spermakern hervorgegangen). γ^4.

Fig. 9. Wahrscheinlich rekonstruierte Ei- und Spermakerne in chromatischer Umbildung begriffen; bei *c* und *d* zeigt 1 Kern beginnende Abschnürung. γ^4.

Fig. 10. 3 Kerne entweder aus einem konjugierten Kern durch Teilung hervorgegangen oder dadurch, daß einer der beiden nicht konjugierten Kerne sich geteilt hat. γ^4.

Fig. 11 wie Fig. 8. γ^5.

Fig. 12, 13, 14. Eier in Knospenteilung begriffen, Stad. γ^5; in Fig. 12 sind nur die Kerne mit umgebendem Protoplasma dargestellt.

Fig. 15. Konjugierter Kern, *a* Substanz des Spermakerns noch für sich zu erkennen, *b* Substanz beider Kerne verschmolzen. δ^2.

Fig. 16—34. Kerne aus Stadium δ^3.

Fig. 16. Spermakern in Ordenssternfigur, Eikern im Anfang der faserigen Umbildung.

Fig. 17—20. Eikern in Fächerform, welche in den Figuren 18 und 20 die Umbildung zur Spindel erkennen läßt. Fig. 18 3strahliger Spermakern.

Fig. 21 und 22. Eikern in Pseudotetrasterform mit zentraler Chromatinanhäufung.

Fig. 23—25. Chromatin des Eikerns in Umlagerung zur Rosettenform.

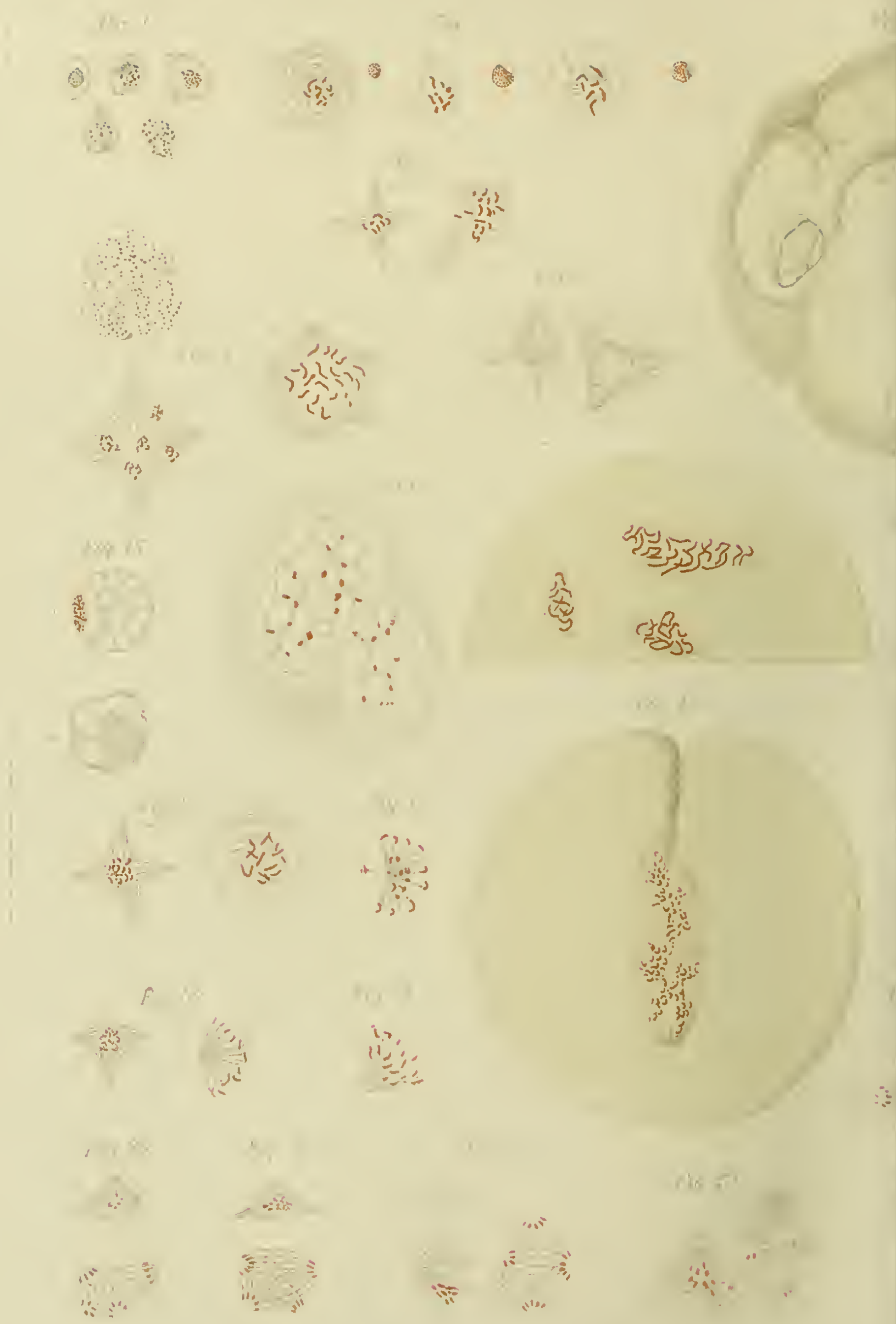
Fig. 26—30. 4strahlige Rosettenform des Eikerns. Spermakerne 3strahlig, beginnen in Fig. 28 und 29 mit dem Eikern in Verbindung zu treten. Fig. 30 stärker vergrößert. $\frac{1}{18}$ Oc. 3.

Fig. 31. Rosettenförmiger Eikern, bei dem ein Pol schwach entwickelt ist. Spermakern 3strahlig.

Fig. 32. Rosettenförmiger Eikern, bei dem eine Ecke mehr als normal entwickelt ist; vierstrahliger Spermakern, bei dem die Chromatinumlagerung zur Rosettenform beginnt.

Fig. 33. Rosettenförmiger Eikern mit 6 Ecken.

Fig. 34. Kern aus Konjugation hervorgegangen, undeutlich faserig differenziert.







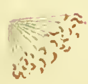










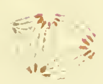














Tafel VI.

Fig. 1. / Fig. 2. } Eikern und Spermakern in Rekonstruktion. Stad. δ^3.

Fig. 3. Die rekonstruierten beiden Kerne in chromatischer Metamorphose. Stadium δ^3.

Fig. 4. Eikern in Rosettenform und Spermakern in Ordenssternform treten zu einander in Beziehung. δ^3.

Fig. 5. 8 Gruppen von Kernbläschen hervorgegangen aus einem rosettenförmigen konjugierten Kern. δ^3.

Fig. 6. 6 strahliger rosettenförmiger Furchungskern. δ^3.

Fig. 7 u. 8. Rekonstruierter Furchungskern in chromatischer Umbildung. δ^3.

Fig. 9—11. Kernteilungen, in Figur 9 auch Protoplasmateilung. δ^4.

Fig. 12—27. Serie ε.

Fig. 12. Spermakern und Eikern sind noch nicht vereinigt. ε^1

Fig. 13 und 14. Spermakern und Eikern in mehr oder minder inniger Konjugation. ε^1.

Fig. 15. Konjugierte Kerne, bei denen sich die Substanzen von Ei- und Spermakern nicht mehr unterscheiden lassen. ε^2.

Fig. 16. Eikern und Spermakern fast ganz zu einem 7 poligen Kern vereinigt und faserig differenziert. Chromatin in Umlagerung zur Rosettenform begriffen. 2 schwächere Strahlungen in einiger Entfernung vom Kern, eine stärkere an einem Kernpol. ε^3.

Fig. 17. Eikern und Spermakern getrennt in die Rosettenform übergeführt. ε^3.

Fig. 18. Konjugierter Kern in Rosettenform, eine Strahlung auf der einen, eine Doppelstrahlung auf der anderen Seite. ε^3.

Fig. 19. Achtstrahliger Rosettenkern. ε^3.

Fig. 20. Stück eines konjugierten Kerns, bei dem das Chromatin noch nicht in die Rosettenform übergegangen ist.

Fig. 21. Achtstrahliger Rosettenkern, bei dem je 2 Ecken fast zur Vereinigung genähert sind.

Fig. 22. Fünfstrahliger Rosettenkern mit Strahlung an den Polen. ε^3.

Fig. 23. Ei in Teilung mit 5 ungleich großen, schwach chromatischen Kernen. ε^4.

Fig. 24. Ei fast zweigeteilt, 2 faserig differenzierte Kerne, davon einer in Fächerform. ε^4.

Fig. 25. Sechs Haufen von Kernbläschen aus Teilung eines rosettenförmigen Kerns entstanden. ε^3.

Fig. 26. Beginnende Verschmelzung der Kernbläschen, welche aus der Teilung eines rosettenförmigen Kerns entstanden sind. ε^3.

Fig. 27. Acht mehr oder minder ansehnliche Haufen von Kernbläschen aus der Teilung eines Rosettenkerns hervorgegangen. ε^3.

Fig. 1



Fig. 2.



Fig. 9.





Fig. 3.



Fig. 4.

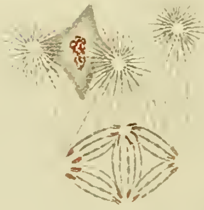


Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 10.

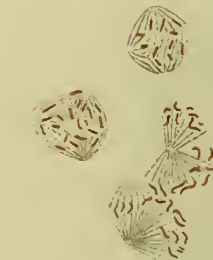


Fig. 7.



Fig. 8



Fig. 19.



Fig. 20.



Fig. 21



Fig. 22.

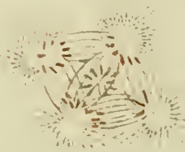


Fig. 23.



Fig. 12.



Fig. 13.

a b



Fig. 14.



Fig. 15.

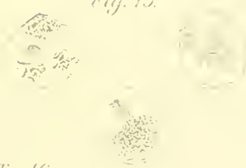


Fig. 11.

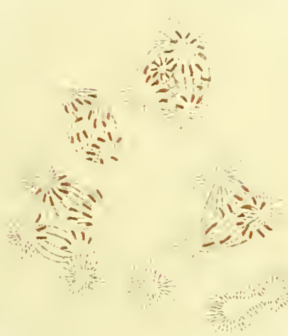


Fig. 16.



Fig. 17.



Fig. 18.



Fig. 24.



Fig. 25.

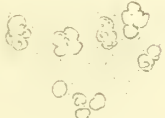


Fig. 26.

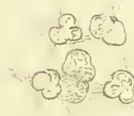


Fig. 27.

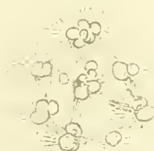


Fig. 1.

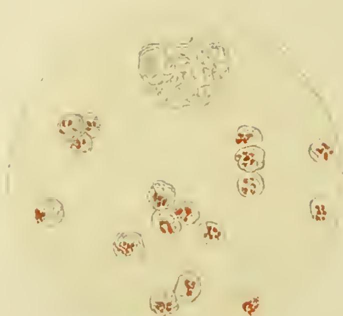


Fig. 2.



Fig. 3.

Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.



Fig. 9.



Fig. 10.



Fig. 11.



Gustav Fischer

Tafel VII.

Fig. 1. Ei vor der Bildung des 2. Richtungskörpers polysperm befruchtet und dann mit Chloral behandelt. Stad. δ^4.

Fig. 2. Ei auf dem Stadium der Richtungsspindel vor Bildung des ersten Richtungskörpers polysperm befruchtet und dann chloralisiert. δ^4.

Fig. 3. Ein wahrscheinlich mechanisch verletztes und infolge dessen polysperm befruchtetes, chloralisiertes Ei. ε^7.

Fig. 4 und 5. Furchungskern nach der Teilung des Rosettenkerns in Rekonstruktion begriffen. ε^3.

Fig. 6 und 7. Rekonstruierter, aber noch höckerig eingeschnürter Furchungskern. ε^3.

Fig. 8—11. Verschiedene Stadien der chromatischen Metamorphose des rekonstruierten Furchungskerns. ε^3.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Viertes Kapitel.

Beurteilung der Beobachtungen.

Als wir vor einigen Jahren die experimentellen Untersuchungen über die Teilung und Befruchtung des Eies begannen, wurden wir von dem Gesichtspunkt geleitet, daß hier Prozesse vorliegen, welche mit großer Gesetzmäßigkeit ablaufen, trotzdem aber nicht so sehr befestigt sind, daß sie nicht durch äußere Einflüsse abgeändert werden könnten. So war denn zu hoffen, daß man in der Erkenntnis dieser Prozesse weiter gelangen würde, wenn man durch Einführung bestimmter äußerer Faktoren ihren Verlauf modifizierte und die dadurch gesetzten Veränderungen einem genauen Studium unterwürfe. Es war zu hoffen, daß man von der Qualität der abändernden Eingriffe einen Rückschluß würde machen können auf die Kräfte, welche die Gesetzmäßigkeit der normalen Vorgänge gewährleisten.

Der damit eingeschlagene Weg ist langwierig und wird erst allmählich zu festen Resultaten führen, vielfach wird er zunächst nur die Zahl der unverstandenen Erscheinungen vermehren und Beobachtungen fördern, welche jetzt noch wie Curiosa erscheinen und von denen man auch nicht absehen kann, ob sie überhaupt einmal Bedeutung gewinnen werden. Daß daneben aber schon jetzt viele wichtige und sichere Ergebnisse gefördert werden können, welche irrtümliche Ansichten beseitigen und durch neue, besser begründete verdrängen werden, glauben wir durch unsere früheren Untersuchungen gezeigt zu haben und hoffen es auch durch die hier neu mitgeteilten Beobachtungen zu beweisen.

Wir haben lange geschwankt, ob es zweckmäßig sei, bei der Ausarbeitung des allgemeinen Teils uns auf eine übersichtliche Zusammenstellung der wichtigsten von uns gewonnenen Beobachtungen zu beschränken, oder ob wir den Versuch machen sollten, zugleich auch die Frage nach den bei der Befruchtung und Teilung wirksamen Kräften zu erörtern. Obwohl wir nun uns vollkommen bewußt sind, wie wenig Angriffspunkte der kausalen Beurteilung gegeben sind, und unsere Untersuchnng nur als eine erste Rekognoszierung auf einem weiten und dunklen Gebiet betrachten, haben wir uns gleichwohl zu dem an zweiter Stelle genannten Verfahren entschlossen, hauptsächlich wegen des heuristischen Wertes, welchen dasselbe besitzt. Für den weiteren Fortgang der begonnenen experimentellen Studien ist schon viel gewonnen, wenn es gelingt, die Fragestellung bestimmter zu fassen und neue Gesichtspunkte zur Anstellung weiterer Versuche zu entwickeln. Dazu wird man aber erst gelangen, wenn man anfängt den Vorrat an Beobachtungen und Experimenten, so klein derselbe auch sein mag, auf seine Beweiskraft zu prüfen und kritisch zu sichten. Wir selbst sind auf eine ganze Reihe wichtiger experimentell zu lösender Frage erst geführt worden, als wir untersuchten, inwieweit die angestellten Experimente geeignet sind, um eine klarere Erkennung der dem Protoplasma und dem Kern zukommenden Eigenschaften anzubahnen.

Die Experimente, welche wir im speziellen Teil mitgeteilt haben, sind angestellt worden, um durch chemische, thermische und mechanische Eingriffe den normalen Verlauf von 3 Prozessen abzuändern: 1. den Verlauf der äußeren Befruchtungserscheinungen oder sagen wir kurz der Besamung, 2. den Verlauf der inneren Befruchtungserscheinungen und 3. den Verlauf der Teilung. Der allgemeine Teil gliedert sich demgemäß ebenfalls in 3 Abschnitte, zu dem dann noch ein vierter hinzukommt, welcher die Wirkungsweise der angewandten Agentien im allgemeinen behandelt. Um nämlich die von uns künstlich erzeugten Modifikationen der Befruchtung und Teilung richtig beurteilen zu können, muß man sich zuvor darüber Klarheit verschaffen, wie überhaupt die chemischen, thermischen und mechanischen Eingriffe auf Protoplasma und Kern wirken.

---

1. Abschnitt.

Über die Einwirkungsweise der angewandten Agentien.

Um die Einwirkungsweise von Agentien auf die Geschlechtsprodukte zu verstehen, haben wir dieselben in verschiedener Stärke angewandt; wir haben bei chemischen Körpern die Konzentration der Lösung variiert und bei Wärme größere oder geringere Temperatur benutzt. Denn es ist bekannt, daß der Einfluß von Lösungen bei zunehmender Konzentration in das Gegenteil von dem, was man bei schwachen Lösungen beobachtet hat, umschlagen kann.

Ferner kommt die Zeitdauer der Einwirkung in Betracht. Starke Lösungen veranlassen in kurzer Zeit häufig Erscheinungen, welche von schwachen Lösungen nach längerer Dauer ebenfalls herbeigeführt werden. Jede durch äußere Einflüsse verursachte Veränderung ist somit ein Produkt von der Energie und von der Dauer der Einwirkung. Um nun eine kurze Ausdrucksweise zu gewinnen, welche zugleich auch auf die mechanischen und thermischen Einflüsse paßt, wollen wir im folgenden von schwachen, mittelstarken und starken Agentien reden, ohne immer zu analysieren, wieviel von der Einwirkung auf Rechnung der Zeitdauer oder der Energie gesetzt werden muß.

Die Bezeichnungen „schwache und starke Agentien" bedürfen noch der Erläuterung, da wir Mittel, welche direkt untereinander gar nicht vergleichbar sind, auf sehr verschiedenartige Prozesse haben einwirken lassen. Es hat sich für uns die Notwendigkeit herausgestellt, eine bestimmte Einwirkungsweise als Maßstab überall zu Grunde zu legen; als solche wird sich am besten diejenige Reaktion empfehlen, in welcher zwischen allen angewandten Mitteln die größtmögliche Übereinstimmung herrscht, und so wird unser Augenmerk auf die Polyspermie gelenkt. Alle benutzten chemischen Körper von einer bestimmten Konzentration und Einwirkungsdauer an, sowie die Erwärmung und die mechanische Erschütterung stimmen darin überein, daß sie, auf unbefruchtete Eier angewandt, dieselben der Fähigkeit berauben, dem Eindringen von mehr als einem Spermatozoon Widerstand zu leisten. Wir wollen nun als schwache Agentien solche bezeichnen, bei denen die ersten Merkmale von Vielbefruchtung auftreten, bei denen ein großer Teil der Eier noch normal befruchtet ist, wärend in andere

schon 2, hier und da vielleicht auch 3 Spermatozoen eingedrungen sind.

Von starken Agentien wollen wir sprechen, wenn ihre Itensität so sehr gesteigert ist, daß fast bei allen Eiern Überfruchtung durch 4, 5 und mehr Spermatozoen herbeigeführt wird. Man kann dann die angewandte Bezeichnungsweise durch folgende Tabelle [1]) erläutern.

1. Schwache Agentien, welche hie und da Doppel- und Dreifachbefruchtung verursachen, sind:

1.	Nikotin	10 Min. 1 Trpf. Extr.: 1000 Wasser od.	5 Min. 1 : 200
2.	Strychnin	20 Min. 0.005 % od.	10 Min. 0.01 %
3.	Morphium	2 Std. 0.1—0.2 % od.	1/4 Std. 0.6 %
4.	Cocain	5 Mn. 0,025 %	?
5.	Chinin	5 Mn. 0.005 % od.	5 Mn. 0.05 %
6.	Chloral	12 „ 0.2 %	
7.	Wärme	10 „ 31° C.	

2. Starke Agentien, bei deren Anwendung fast überall 4, 5 und mehr Spermatozoen eindringen, sind:

1.	Nikotin	20 Mn.	1 : 1000	oder	5	Mn.	1 : 100
2.	Strychnin	20 „	0.01 %	„	5	„	0.1 %
3.	Morphium	5 Std.	0.4 %	„	2 1/2	Std.	0.6 %
4.	Cocain	5 Mn.	0.1 %				
5.	Chinin	1 Std.	0.005 %	„	10	Mn.	0.05 %
6.	Chloral	3 „	0.2 %	„	5	„	0.5 %
7.	Wärme	45 Mn.	31° C.	„	5	„	35° C.

Während die angewandten Mittel darin, daß sie Polyspermie veranlassen, übereinstimmen, sind sie im übrigen von einander sehr verschieden und zwar können wir im ganzen 3 Gruppen bilden: auf der einen Seite stehen Chinin und Chloral, wahrscheinlich auch das nicht genügend untersuchte Cocain, auf der anderen Seite Nikotin und Strychnin, eine mittlere Stellung nimmt das Morphium ein. Der Einwirkungsweise von Chinin und Chloral nähert sich übermäßige Erwärmung.

Die Erscheinungen, bei welchen die Unterschiede zu Tage

---

1) Zu dieser Tabelle bemerken wir, daß wir selbst am meisten ihre Unzulänglichkeit beklagen. Es müßten, da die frischen Eier selbst je nach dem Muttertier sehr verschiedenartig sind, die Versuche zahlreicher und noch methodischer angestellt werden. Immerhin ist die Tabelle geeignet zu erläutern, was angestrebt werden müßte.

treten, sind folgende: 1. die Bewegungen der Spermatozoen, 2. die Bildung der Befruchtungshügel, 3. die Teilung der Eier, 4. die karyokinetischen Vorgänge, 5. die Protoplasmastrahlung.

1. Die Bewegungen der Spermatozoen werden durch geringe Dosen von Chinin und Chloral vollkommen zum Stillstand gebracht. Da die Spermatozoen bei Zusatz von frischem Seewasser zu neuem Leben erwachen, so werden sie nicht getötet, sondern erfahren nur eine Lähmung ihrer Kontraktilität. Die Befruchtungsfähigkeit des Samens wird nicht verändert; wenn bei frischem Wasserzusatz die ersten schwachen Bewegungen auftreten, beginnen auch ganz normale Befruchtungen der Eizellen. Mit Erwärmung haben wir nicht experimentiert, glauben aber mit ziemlicher Sicherheit voraussagen zu können, daß sie ähnlich wirken wird.

Morphium scheint auf den männlichen Samen gar keinen Einfluß auszuüben, ebensowenig mittelstarke Lösungen von Strychnin und Nikotin; denn in Lösungen, welche bei kurzer Einwirkung schon befähigt sind Polyspermie zu erzeugen, schwimmen die Spermatozoen noch nach 2 Stunden lebhaft beweglich herum. Wir haben zwar auch mit Nikotin das Sperma seiner Bewegungsfähigkeit beraubt, aber es geschah das erst nach 1 stündiger Einwirkung einer sehr starken Lösung, in welcher die Eier sofort zu Grunde gehen würden, und bei der es daher recht wohl möglich wäre, daß die gesamte Lebensenergie der Samenfäden, vielleicht sogar ihre chemische Konstitution, Veränderungen erfahren hatte. Jedenfalls muß man vorsichtig sein, hier von einem unmittelbaren Einfluß auf die Kontraktionsfähigkeit der Elemente zu reden.

2. Die Bildung der Befruchtungshügel, jener Erhebungen des Eiprotoplasma, welche die Eintrittsstelle der Spermatozoen markieren, leidet bei Chinin- und Chloralbehandlung und zwar scheinen sie durch Chinin noch mehr als durch Chloral verkleinert zu werden. Schwache Erwärmung bewirkt anfangs eine Vergrößerung der Befruchtungshügel; bei längerer Dauer und höheren Graden dagegen ähnelt sie der Chininwirkung; die Bildung der Befruchtungshügel kann hier sogar ganz unterbleiben, wenn z. B. die Erwärmung auf 32 ° Celsius 1 Stunde lang fortgesetzt wird, oder wenn hohe Temperaturen von 35—40 ° nur kurz angewandt werden.

Morphium verhält sich indifferent, höchst auffällig dagegen Strychnin und Nikotin. Selbst bei hochgradiger Polyspermie sind die Hügel äußerst deutlich, und nicht unwesentlich größer als bei normaler Befruchtung, während man doch eher hätte er-

warten sollen, daß das Eiplasma weniger zur Bildung geeignet ist, wenn es an vielen Orten gleichzeitig in Anspruch genommen wird. Als einen recht in die Augen springenden Fall heben wir hervor, daß bei Behandlung der Eier mit einer 0.25 $^0/_0$ Lösung zahlreiche große Befruchtungshügel sich bilden, obwohl dann in der Abhebung der Eimembran schon eine Verlangsamung eintritt.

3. Über den Einfluß der Agentien auf die Eiteilung haben wir ein sehr umfangreiches Material gesammelt; dasselbe bringt den oben hervorgehobenen Gegensatz zwischen den beiden Gruppen recht deutlich zum Ausdruck. In einer 0.6 $^0/_0$ Morphiumlösung teilen sich die Eier fast ungestört, in einer 0.1 $^0/_0$ Lösung entwickeln sie sich sogar einen ganzen Tag normal, auch wenn das Wasser nicht gewechselt wird. Strychnin und Nikotin sind fast unschädlich auch in Lösungen, welche schon hochgradige Polyspermie erzeugen. Dagegen lähmen Chinin, Chloral und Wärme die Teilungsfähigkeit des Eies in hohem Grade. Der Teilungsprozeß wird um $^1/_2$ Stunde hinausgeschoben, wenn Eier, welche auf dem Hantelstadium stehen, auch nur 10 Minuten lang in einer 0.05 $^0/_0$ Chininlösung belassen werden; eine Dauer von 20 Minuten hat eine weitere Verzögerung von 15 Minuten zur Folge; bei einer halbstündigen Dauer wird die Gesamtverzögerung sogar auf 1 $^1/_2$ Stunden erhöht. Vielfach erhält das Ei überhaupt seine vollkommene Teilungsfähigkeit nicht wieder, so daß Knospenfurchungen entstehen. Vollkommener Stillstand der Teilung tritt sicher bei starken Lösungen ein.

Noch intensiver wirken Chloral und Wärme; namentlich ist hier die Nachwirkung so außerordentlich auffallend, bei Wärme wiederum mehr als bei Chloral. Es scheint, als ob Eier, welche nur 10 Minuten lang in Wasser von 32° C. verharrt haben, nie ihre volle Teilungsfähigkeit wieder gewinnen.

4. Die Veränderungen, welche Chinin und Chloral bei der Eiteilung hervorrufen, beschränken sich nicht auf das Protoplasma, sondern ziehen auch den Kern in Mitleidenschaft. Wenn dieser sich schon zur Spindel gestreckt hat und unter den Einfluß der genannten Reagentien gerät, wird er nicht nur in seiner Weiterentwicklung gehemmt, sondern erleidet sogar eine regressive Metamorphose und wird wieder zu einem Bläschen. Die übrigen Stoffe sind dagegen indifferent.

5. Sehr wichtig ist endlich für uns das Verhalten der angewandten Reagentien gegenüber den Strahlungserscheinungen, welche sowohl während der Befruchtung als auch während der

Teilungen auftreten. Dieselben werden bei Chloral- und Chininbehandlung, ebenso durch hochgradige Erwärmung gänzlich unterdrückt; entweder kommen sie gar nicht zur Ausbildung oder sie verschwinden wieder, wenn sie schon vor der Behandlung vorhanden waren. Erst spät, wenn die Chloral- und Chininlösung gut ausgewaschen und die Einwirkungen vorübergegangen sind, tritt Strahlung von neuem auf, sie kann bei den mit Chinin behandelten Eiern sogar dann stärker sein als normal, erreicht dagegen bei Chloralanwendung und Erwärmung nie ihre volle Intensität wieder. In der Nachwirkung besteht somit auch hier wieder ein auffälliger Unterschied zwischen Chinin einerseits und Chloral und Wärme andererseits.

Während Morphium sich indifferent verhält oder nur geringfügig der Strahlung entgegenwirkt, haben Nikotin und Strychnin den entgegengesetzten Effekt. Namentlich durch Strychnin wird die Strahlung in hohem Maße gesteigert. Selbst wenn eine 0.25 % Lösung 10 Minuten lang gewirkt hatte, war die Strahlung der Spermakerne sehr deutlich; eine Abschwächung, aber keineswegs vollkommene Unterdrückung, trat erst bei einer Anwendung während 25 Minuten ein.

Wenn wir die soeben zusammengestellten Verhältnisse nun noch einmal überblicken, um einen Rückschluß auf die Einwirkungsweise der Reagentien zu machen, so scheint uns am meisten Klarheit zu herrschen soweit als es sich um die Kontraktilitätserscheinungen der Geschlechtsprodukte handelt. Diese werden unzweifelhaft durch Chinin und Chloral herabgesetzt, wie man es am deutlichsten an der Lähmung der Spermatozoen erkennen kann. Aber auch das Unterbleiben der Teilung und die retrograde Verwandlung des Kerns sind wohl Zeichen, daß die Befähigung zu aktiver Bewegung vorübergehend aufgehoben wird. Umgekehrt scheinen Nikotin und Strychnin die Kontraktilität in geringem Maße zu erhöhen. Wir stellen die Ansicht nur als eine Vermutung auf und werden dabei durch die Wahrnehmung bestimmt, daß die genannten Reagentien eine verstärkte Bildung der Befruchtungshügel veranlassen, in denen sich doch eine lokale Kontraktion des Plasma's ausspricht. Um sichere Ergebnisse zu gewinnen, müßte man methodischer, als wir es gethan haben, untersuchen, ob die beiden Substanzen in geeigneten Lösungen eine Beschleunigung der Eiteilung oder der Spermatozoenbewegung zur Folge haben.

Wenn die Ansicht richtig ist, daß Chinin und Chloral lähmend, Nikotin und Strychnin in geringem Maße erregend auf die Kontraktilität des Eies wirken, so ist damit ein neuer Gesichtspunkt gewonnen für die

Deutung der Strahlungserscheinungen im Innern des Eies.

Da dieselben aufgehoben werden durch lähmende Reagentien, eine Steigerung erfahren durch erregende Mittel, so hätte man Ursache die Strahlungsfigur als Ausdruck einer im Protoplasma vor sich gehenden Kontraktion aufzufassen.

Nach unserer Ansicht sind der Spermakern und die Enden des Furchungskerns Reizzentren, welche auf das Protoplasma erregend einwirken. Es ist naturgemäß, daß die homogenen Bestandteile des Plasma's, welche Sitz der Kontraktilität sind, nach dem Punkte der Erregung hinströmen und hier eine Anhäufung erzeugen; es ist aber ferner naturgemäß, daß die Bewegung in radialen Bahnen fortschreitet und dadurch auf die passiven Teile, die Körnchen, einen richtenden Einfluß ausüben muß. Der richtende Einfluß wird aber nur so lange zum Ausdruck kommen, als die ihn veranlassende Bewegung eine energische, rasch fortschreitende ist. Wird die Bewegung durch lähmende Mittel verlangsamt, so wird die Körnchenanordnung unterbleiben und nur die Anhäufung homogenen Plasma's im Umkreis des Kerns zu stande kommen. Daher sehen wir bei allen Lähmungen des Protoplasmas, namentlich den durch Wärme veranlaßten, ein Stadium eintreten, wo die Strahlungsfigur durch eine Anhäufung homogenen Plasma's ersetzt wird, ehe sie gar nicht mehr zur Ausbildung gelangt.

Namentlich die letztgenannte Erscheinung scheint uns gar nicht mit der Deutung vereinbar zu sein, welche von früheren Forschern, darunter auch solchen, die sich mit dem Gegenstand intensiver beschäftigt haben, versucht worden ist.

Ausgehend von dem Umstand, daß eine ähnliche Anordnung erreicht wird, wenn die Spitze eines Magneten in feinste Eisenteilchen getaucht wird, haben dieselben die reihenförmige Stellung der Körnchen ebenfalls aus einer Anziehung erklärt, welche der Spermakern oder in anderen Fällen die beiden Enden des Furchungskerns auf die Protoplasmateilchen ausüben. Welcher Art diese Anziehung wohl sein könnte, ob magnetoelektrischer oder anderer Natur, darüber hat man sich keine Vorstellungen gebildet.

Für die ursächliche Erklärung der Strahlungsfiguren scheinen uns von besonderer Bedeutung auch die Fälle zu sein, in denen sich dieselben in einiger Entfernung vom Kern im Protoplasma des Eies bilden. Am häufigsten haben wir sie gesehen, wenn die normale Befruchtung eingeleitet, in ihrem Fortgang aber durch Chloral gehemmt worden war. Wenn sich dann die unregelmäßigen Kernfiguren ausbilden, werden häufig auch unregelmäßige Strahlungen im Plasma sichtbar. (Taf. III, Fig. 19, 23, 24; Taf. IV, Fig. 2, 5a; Taf. VI Fig. 18.)

Weitere Bedingungen für die Ausbildung von reinen Plasmastrahlungen werden geliefert, wenn zahlreiche Spermakerne in ein Ei eingedrungen sind. Meist treten sie dann erst auf, wenn die Vorbereitungen zur Teilung beginnen, aber auch vorher haben wir sie gesehen in den Fällen, wo wir durch Schütteln abgelöste Eistücke befruchtet hatten. (Taf. I, Fig. 9 und 16; Taf. II, Fig. 5 und 15.)

Außer uns hat nur noch Carnoy [1]) Plasmastrahlungen beobachtet und zwar an Eiern von Ascaris megalocephala zur Zeit der Richtungskörperbildung; er unterscheidet je nach ihrer Lagerung zu dem Kerne Strahlungen erster, zweiter und dritter Ordnung. Während nun Carnoy die betreffenden Strahlenfiguren für normale Bildungen hält, sind wir vielmehr der Ansicht, daß es sich um pathologische Verhältnisse handelt. In den von uns beobachteten Fällen ist es unzweifelhaft, daß abnorme Zustände vorlagen, da wir sie künstlich herbeigeführt hatten; wir tragen aber kein Bedenken, die Deutung auf die Beobachtungen Carnoy's zu verallgemeinern, und wollen unsere abweichende Auffassung mit kurzen Worten begründen.

Wer die von Carnoy gegebenen Abbildungen betrachtet, dem wird sofort die ganz außerordentliche Mannigfaltigkeit derselben auffallen. Die Figuren von den Protoplasmastrahlungen und den karyokinetischen Veränderungen des Kerns weichen sowohl von dem ab, was wir sonst von den so äußerst regelmäßigen Vorgängen bei der Richtungskörperbildung wissen, als auch lassen sie, untereinander verglichen, die nötige Gesetzmäßigkeit vermissen; dagegen liefern sie Seitenstücke zu den von uns künstlich hervorgerufenen Mißbildungen der Kernfiguren. So sehen wir die Richtungsspindel mit 4 und mehr Polen ver-

1) Carnoy, La cytodierèse de l'oeuf. Louvain 1886.

sehen, die Pole ab und zu deutlich, dann wieder undeutlich ausgeprägt.

Wir haben uns mit solcher Bestimmtheit über den pathologischen Charakter der Eier, welche Carnoy zu seinen Abbildungen das Material geliefert haben, ausgesprochen, weil wir uns nicht allein auf theoretische Erwägungen, sondern zugleich auch auf Beobachtungen stützen können. Im zoologischen Institut zu München hat Herr Dr. Boveri mit einwurfsfreien Methoden die Bildung der Richtungskörper und die Befruchtung bei Ascaris megalocephala neu untersucht und dabei principielle Übereinstimmung mit den bei anderen Tieren hierüber gemachten Beobachtungen gefunden; er ist zum Resultat gekommen, daß das Untersuchungsobjekt mit großer Vorsicht behandelt werden muß, weil die Eier sich bei ungünstigem Verfahren leicht zu krankhaften Formen fortentwickeln, ehe sie durch die Reagentien fixiert werden.

Indem wir von der Ansicht ausgehen, daß auch die Strahlungen, welche sich in einiger Entfernung vom Kern befinden, durch Kontraktionen des Protoplasma's veranlaßt sind, liegt es nahe nach einem im Zentrum vorhandenen Körper zu suchen, welcher als Reizerreger hätte funktionieren können. Man könnte daran denken, daß Teile des Kerns sich bei der pathologischen Umbildung abgelöst und die Strahlungen veranlaßt hätten. Wir haben daher mit Aufmerksamkeit nach solchen Kernteilen gesucht, aber keine aufgefunden, woraus wir indessen einen Beweis für ihr Fehlen nicht ziehen wollen; man muß nämlich die Schwierigkeit, welche dem Nachweis achromatischer Kernteile im Protoplasma entgegensteht, berücksichtigen.

Nach einer Ansicht, welcher der eine von uns (R. Hertwig) zuneigt, wäre es freilich nicht einmal notwendig, die Existenz besonderer als Reizerreger functionierender Körper im Zentrum der Strahlungen anzunehmen; es wäre denkbar, daß der Reiz auch hier von den Kernenden ausgeht, während die Kontraktion in einiger Entfernung von ihnen sich vollzieht. Einerseits könnte das Protoplasma im Umkreis des Kerns die Fähigkeit der Kontraktion für einige Zeit verloren, die Fähigkeit der Reizleitung aber bewahrt haben, andererseits aber wäre es möglich, daß die von verschiedenen Punkten ausgehenden unregelmäßigen Kontraktionswellen sich zu neuen Kontraktionen kombinieren. Wir verzichten zunächst darauf, diese Gesichtspunkte im einzelnen weiter zu verfolgen.

Erhöhte Erregbarkeit, Lähmung und Polyspermie sind nun nicht die einzigen Veränderungen, welche durch die äußeren Eingriffe in den Eiern veranlaßt werden; nebenher gehen jedenfalls auch Veränderungen in der chemischen Beschaffenheit der das Ei bildenden Substanzen selbst zu einer Zeit, wo noch nicht Tod eintritt. So haben wir zweimal eine merkwürdige Veränderung im Farbstoff der Eier beobachtet. Wenn Eier in Chinin- oder Morphiumlösungen sich entwickeln, verschwinden die braunen Pigmentkörnchen aus dem Protoplasma und der Raum zwischen Ei und Dotterhaut nimmt ein lichtgelbes Kolorit an. Offenbar wurde das Pigment gelöst und nach außen befördert. Eier, welche mehrere Stunden in Nikotinlösung gelegen haben, werden körnig und trübe. Vielfach treten Trübungen erst im Laufe der Entwicklung einige Zeit nach Einwirkung des Reagens auf. So bilden sich z. B. im Dotter nach Chininbehandlung größere und kleinere, wie Fett glänzende Tropfen. (Taf. II, Fig. 21, 22, 24.)

Wichtiger noch als diese sichtbaren Veränderungen sind jedenfalls die für unser Auge nicht erkennbaren Störungen in der feineren Beschaffenheit der Eizellen. Ganz abgesehen von dem, was wir oben über die Kontraktilität gesagt haben, so werden die Eier jedenfalls durch den Einfluß äußerer Eingriffe vielfach eine gleichförmige Herabsetzung der Lebensthätigkeit erfahren. Es wird nicht überall leicht sein, aber man wird prinzipiell wohl unterscheiden müssen, ob eine bestimmte Funktion der Eizelle unmittelbar durch die Einwirkung eines Reagens verändert wird, oder mittelbar, weil sie einen Teil des in seiner Gesamtheit veränderten Lebens darstellt.

Zweiter Abschnitt.

Veränderungen der normalen Besamung.

Will man die Besamung oder die äußeren Befruchtungserscheinungen abändern, so könnte man von vornherein drei Wege einschlagen: 1. vor der Besamung beiderlei Geschlechtsprodukte in abnormer Weise beeinflussen, 2. die Beeinflussung auf die Spermatozoen oder 3. auf die Eier beschränken. Von diesen drei Möglichkeiten ist nur die zuletztgenannte verwertbar gewesen; denn die Samenfäden können, soweit unsere Erfahrungen reichen, nicht verändert werden,

ohne die Befähigung zur Befruchtung zu verlieren. Entweder haben sie die Beweglichkeit, welche nötig ist, um in das Ei einzudringen, eingebüßt, oder wenn das nicht der Fall ist, befruchten sie nach unseren Erfahrungen in normaler Weise.

Wie wir bei einer früheren Gelegenheit auseinandergesetzt haben, ist für die normale Besamung charakteristisch, daß nur Ein Spermatozoon in das Ei dringt und zwar ein derselben Art angehöriges. Abnorme Befruchtung tritt ein, wenn Spermatozoen einer anderen Art die Befruchtung bewirken, (Bastardierung) oder wenn bei Wahrung der Art-Übereinstimmung viele Spermatozoen in das Ei hineingelangen (Polyspermie). Es fragt sich nun, welcher Art sind die Einrichtungen, welche abnorme Befruchtungen verhindern.

Bei den Spermatozoen haben wir keine Eigenschaften entdeckt, welche das Zustandekommen einer normalen Befruchtung auch nur begünstigten. Dieselben scheinen die Tendenz zu besitzen, in jedwedes Ei und zwar in jeder Menge einzudringen. Wir haben zwar nur wenige Versuche gemacht, sind aber der Überzeugung, daß eine methodische Untersuchung zu gleichen Resultaten führen wird, daß nämlich die Spermatozoen dieselbe Tendenz besitzen, ein gleichartiges Ei wie das Ei einer anderen Art zu befruchten.

Haben wir somit die Frage auf das Ei eingeschränkt, so wäre zunächst zu entscheiden, ob die Bedingungen für Bastardierung die nämlichen wie für Polyspermie sind.

Wir müssen zu unserem Bedauern eingestehen, daß wir noch nicht in der Lage sind, hierüber ein entscheidendes Urteil zu fällen; als wir über Bastardierung arbeiteten, hatten wir nicht Zeit und auch nicht die genügende Ausrüstung, um eine methodische Untersuchung vorzunehmen. Bei dem zweiten Meeresaufenthalt dagegen fehlte uns das Material zur Bastardierung.

Immerhin wollen wir das Wenige, was wir ermittelt haben, im Folgenden zusammenstellen.

Wenn man Eier längere Zeit in Wasser liegen läßt, dringen einerseits in dieselben zahlreichere Spermatozoen ein, andererseits gelingt es vielfach, sie in einer früher nicht möglichen Richtung zu bastardieren. Je nach den Arten, welche man gewählt hat, tritt die Bastardierungsmöglichkeit früher oder später als die Überfruchtung ein. Somit wäre denn langer Aufenthalt im Meerwasser ein Mittel, um sowohl Bastardierung, als auch Polyspermie

herbeizuführen. Man darf jedoch aus diesen Beobachtungen keine weitgehenden Schlüsse ziehen. Denn bei langem Liegen leidet die Lebensthätigkeit der Eizelle in allen ihren Einzelfunctionen: auch andere Erscheinungen werden verändert, wie z. B. die Dotterhaut nicht mehr gebildet wird und die Teilung häufig einen veränderten Charakter annimmt.

Von Reagentien haben wir bei dem Aufenthalt in Sorrent nur das Chloroform zu einigen Experimenten benutzt und gefunden, daß Eier, welche genügend chloroformiert waren, um überfruchtet zu werden, keine gesteigerte Tendenz zur Bastardierung zeigten. Wir hätten das Experiment, welches uns damals außerordentlich überraschte, später gern wiederholt und auch andere chemische Körper versucht, haben aber bisher keine Gelegenheit dazu gehabt. Jedenfalls wäre es von großem Interesse, wenn der Nachweis gelänge, daß die zur Überfruchtung führenden chemischen Körper entweder gar nicht, oder wenigstens nicht alle die Bastardierung ermöglichen. Vielleicht giebt es auch umgekehrt Mittel, welche die Tendenz zur Bastardierung, aber nicht die Überfruchtung steigern. Dann würde der Nachweis geführt sein, daß die regulatorischen Kräfte gegen Bastardbefruchtung und gegen Polyspermie ganz verschiedener Natur sind, und würden wir damit einen wichtigen Schritt zur Erkenntnis der im Ei schlummernden Kräfte vorwärts gethan haben.

Bis ein erneuter Aufenthalt am Meer uns ermöglicht, die in Sorrent begonnenen Untersuchungen fortzusetzen, wollen wir uns auf die Besprechung der Polyspermie beschränken.

Polyspermie kann durch chemische, thermische und mechanische Eingriffe herbeigeführt werden und zwar wird die Zahl der befruchteten Spermatozoen in demselben Maß vermehrt, als die Intensität und die Einwirkungsdauer der angewandten Agentien gesteigert werden. Nur bei Erwärmung scheint ein Punkt einzutreten, von welchem ab eine Vermehrung der Spermatozoen nicht allein aufhört, sondern die Befruchtung sogar ganz unterbleibt, ein Punkt, der übrigens noch genauer verfolgt zu werden verdient.

Wir wollen nun an der Hand unserer Resultate die Frage erörtern, ob sich nicht aus der Qualität der Agentien und aus der Art, in welcher sie zur Überfruchtung führen, manches zur

Charakteristik der Kräfte, welche das Eindringen von mehr als einem Spermatozoon verhindern, entnehmen läßt.

Zu dem Zwecke wollen wir zwei Hypothesen, welche schon früher aufgestellt worden sind, nacheinander auf ihren erklärenden Wert hin prüfen. Dieselben lauten:

1. Das befruchtende Spermatozoon veranlaßt eine Kontraktion der Eizelle, welche das Eindringen weiterer Samenfäden unmöglich macht.

2. Das befruchtende Spermatozoon regt das Ei zur Ausscheidung einer festen Membran, der Dotterhaut an, welche so undurchdringlich ist, daß kein weiterer Samenfaden sich durch sie durchzubohren vermag.

Nach unseren Experimenten scheint es nun ausgeschlossen zu sein, die Kontraktilität des Eies zur Erklärung heranzuziehen. Denn wir haben gesehen, daß Polyspermie nicht nur durch lähmende Agentien herbeigeführt wird, sondern auch von solchen, welche jedenfalls direkt keine lähmenden Eigenschaften besitzen, sondern vielleicht sogar die Kontraktilität des Eies erhöhen. In unserer Auffassung werden wir noch weiter durch die Wahrnehmung befestigt, daß es in beiden Gruppen Substanzen giebt, welche schon in äußerst dünnen Lösungen wirken (Chinin in der einen, Strychnin in der anderen Gruppe), während andere wiederum eine stärkere Konzentration verlangen.

Ausführlicher haben wir uns mit der zweiten Hypothese zu befassen, welche bekanntlich seiner Zeit von Fol aufgestellt worden ist. Fol lehrt, daß anfänglich das Ei nackt oder nur von einer für Spermatozoen durchgängigen, weichen oder von Porenkanälen (Mikropyle) durchsetzten Membran umhüllt ist, und daß, solange als dieser Zustand besteht, die Samenfäden in das Ei eindringen können. Erst bei der Befruchtung wird als eine Schutzvorrichtung gegen das Eindringen weiterer Spermatozoen die Dotterhaut gebildet. Fol stellt sich den Vorgang so vor, daß das erste Spermatozoon, welches die Oberfläche des reifen, aber unbefruchteten Eies berührt, die sekretorische Thätigkeit des Dotters, deren erstes Produkt die Dotterhaut ist, anregt. Vom Punkt der Berührung aus breitet die Membranbildung sich so rasch über die Eioberfläche aus, daß keine weiteren Spermatozoen Zeit finden, sich in den Dotter einzubohren. Das zweite Produkt der Sekretion ist eine Gallerte, welche zwischen Dotterhaut und Eioberfläche zu liegen

kommt und erstere von letzterer abhebt, indem sie durch Imbibition mit Flüssigkeit quillt.

Bei der Beurteilung der FOL'schen Ansicht müssen zwei Punkte auseinandergehalten und getrennt besprochen werden: 1. Wird die Dotterhaut erst bei der Befruchtung gebildet? und 2. ist sie das einzige oder auch nur überhaupt ein Schutzmittel gegen Überfruchtung?

Während wir früher der Ansicht waren, daß die Dottermembran auch dem unbefruchteten Ei zukommt und bei der Befruchtung nur durch Abhebung von der Eioberfläche deutlicher wird, sind wir jetzt anderer Anschauung geworden mit Rücksicht auf Erfahrungen, welche wir bei Befruchtung zertrümmerter Eier gemacht haben. Wenn man ein Ei durch Schütteln in Stücke zerlegt, so wäre es doch höchst unwahrscheinlich, daß auch die Dotterhaut, ihre Anwesenheit vorausgesetzt, in Stücke zerfiele, und zwar ebenso viele Stücke, als kleine Dotterkugeln vorhanden sind. Wir würden vielmehr erwarten müssen, daß das größte Teilstück die Dotterhaut für sich behielte, die übrigen aber als nackte Protoplasmastücke aus der Umhüllung heraustreten und auch nach der Befruchtung ohne Membran bleiben würden. Thatsächlich trifft aber das Gegenteil ein; auch bei den abgesprengten Teilstücken ohne Kern hebt sich die Dotterhaut ab, wenn Spermatozoen in sie hineingelangen.

Übrigens ist die Befruchtung keineswegs der einzige Reiz, auf welchen das Ei mit Abhebung der Dottermembran antwortet. Wenn Eier in Meerwasser gebracht werden, welches mit Chloroform geschüttelt worden war, hebt sich die Membran so vollständig und ganz in derselben Weise ab, als ob die Befruchtung vollzogen worden wäre. Hier werden die fein verteilten Chloroformteilchen, die mit der Oberfläche des Dotters in Berührung kommen, lokale Reize erzeugen. Bei Anwendung von Chloroform in gasförmigem Zustand tritt die Abhebung nicht ein, wahrscheinlich weil hier eine mehr allmähliche und gleichförmige Einwirkung des Mittels stattfindet. Auch bei Anwendung von Lösungen des Chinin, Nikotin, Strychnin etc. läßt sich das mit Chloroformwasser erhaltene Resultat nicht herbeiführen. Solche mit einer Dotterhaut versehenen Eier können nicht befruchtet werden, was wohl erkennen läßt, daß die Spermatozoen nicht vermögen, die Dotterhaut zu durchbohren.

Was nun den zweiten Teil der FOL'schen Ansicht anlangt,

daß die Dottermembran eine Schutzvorrichtung gegen Polyspermie sei, so scheint derselbe auf den ersten Blick mit den von uns gesammelten Beobachtungen unvereinbar zu sein.

Durch äußere Eingriffe haben wir einen Zustand der Eizelle herbeiführen können, in welchem hochgradige Überfruchtung, in manchen Fällen mit 10—15 Samenfäden, eintritt und die Dottermembran in ganz normaler Weise gebildet und abgehoben wird.

Die Erscheinungen sind bei Anwendung der verschiedensten Agentien dieselben, gleichgültig, ob wir lähmende Substanzen wie Chloral oder erregende wie Nicotin einwirken lassen. Um ein Beispiel anzuführen, so genügt eine Behandlung der Eier mit einer 0.1 $^0/_0$ Strychninlösung während 5 Min. um eine hochgradige Polyspermie zu bewirken, und trotzdem wird die Dottermembran, obwohl etwas verlangsamt, noch gebildet, wenn man die Einwirkungsdauer auf 10 Minuten und die Konzentration auf 0.25 $^0/_0$ steigert.

Indessen ist es gleichwohl möglich, die neugefundenen Thatsachen mit den Ansichten Fol's in Einklang zu bringen. Wir haben bei der Bildung der Dottermembran zwei Eigenschaften des Protoplasma's zu unterscheiden: 1. seine sekretorische Fähigkeit, 2. seine Erregbarkeit. Wie eine Drüsenzelle ihr Sekret nur bei einem bestimmten Maß der Erregung liefert, so wird auch die Eizelle ein Minimum von Reiz notwendig haben, um die Membran zu erzeugen. Dieses Minimum des Reizes oder die Reizschwelle sei bei normalen Eiern durch das Eindringen eines Spermatozoon geliefert.

Nun wäre es gut denkbar, daß die sekretorische Fähigkeit des Eies durch die genannten Einwirkungen zunächst gar nicht verändert werde und nur seine Sensibilität eine Verminderung erführe.

Je nach dem Grad der Herabminderung würde derselbe Erregungszustand erst durch den doppelten, dreifachen etc. Reiz herbeigeführt werden. Wo sonst ein Spermatozoon genügte, würden dann zwei, drei oder mehr notwendig sein. Sowie aber die benötigte Reizschwelle erreicht ist, würde die Sekretion in ganz derselben Weise ausgelöst werden wie normal.

Ob der Erklärungsversuch berechtigt ist, läßt sich in einfacher Weise experimentell prüfen, indem man die Konzentration des Samens wechselt. Wir wissen, daß bei normalen Eiern die

Konzentration des Samens keinen Einfluß hat, daß auch bei großen Mengen von Samen gleichwohl nur ein Spermatozoon befruchtet. Wäre nun nach Reagentienbehandlung alles geblieben wie bisher, mit der Ausnahme, daß die Wirkung eines Spermatozoons erst durch zwei, drei und mehr Spermatozoen erreicht würde, so müßte auch hier die Konzentration der Samenflüssigkeit für den Grad der Polyspermie gleichgültig sein. Man müßte die Experimente so einrichten, daß man ein und dasselbe mit Agentien behandelte Eimaterial in verschiedene gleich große Portionen teilte und mit dem gleichen Volumen Samenflüssigkeit befruchtete. Die Samenflüssigkeit müßte demselben Thier entnommen und zu den verschiedenen Befruchtungen auf das zwei-, drei- und vierfache mit Meerwasser verdünnt werden, so daß in den gleichen Volumina nur $^1/_2$, $^1/_3$ oder $^1/_4$ so viel Spermatozoen sind wie in der Normalflüssigkeit.

Obwohl wir uns nun auch auf keine methodischen Experimente berufen können, so scheinen doch die hier gemachten Voraussetzungen vollkommen zuzutreffen; aus einigen wenigen Versuchen haben wir den Eindruck gewonnen, als ob auch bei den mit Chloroform, Chinin etc. behandelten Eiern die Konzentration der Samenflüssigkeit keinen Einfluß auf den Grad der Polyspermie habe.

Wenn es sich nun auch weiter bestätigen sollte, daß bei den Eiern der Seeigel und zahlreicher anderer Tiere die Bildung der Dotterhaut eine Schutzvorrichtung gegen Überfruchtung ist, so kann doch nicht in Abrede gestellt werden, daß auch das Protoplasma als solches eine abweisende Kraft besitzt. Wiederholt sind unter normalen Verhältnissen innerhalb der Dotterhaut Spermatozoen beobachtet worden; wir selbst haben es zweimal gesehen, daß bei Eiern, welche nach Morphiumbehandlung polysperm befruchtet worden waren, einige Spermatozoen im Zwischenraum zwischen Ei und Dotterhaut herumschwammen und abstarben, ohne in das Dotterinnere zu gelangen. Unter allen Umständen müssen wir dem Eiplasma eine die Spermatozoen abweisende Kraft zuschreiben, da ja bei den Bastardierungen Spermatozoen verwandter Arten mit einer nicht zu bewältigenden Energie von der Befruchtung ausgeschlossen werden.

Übrigens handelt es sich hier gar nicht um Eigenschaften, welche nur dem Protoplasma des Eies zukommen, da auch bei den Protozoen analoge Verhältnisse nachgewiesen werden können. Zwei Amoeben haben es in ihrer Gewalt, wenn sie sich berühren, zusammenzufliessen, oder ohne vorangegangene Verschmelzung sich

wieder voneinander zu entfernen; ja selbst zwei Pseudopodien desselben Tieres können getrennt bleiben oder durch eine Anastomose sich vereinigen, was je nach der Art bald leichter bald schwieriger gelingt. Von der Beschaffenheit des Protoplasma hängt es jedenfalls auch ab, ob Infusorien, z. B. zwei Paramaecien, miteinander kopulieren.

Dritter Abschnitt.

Veränderungen in der Konjugation der Geschlechtskerne (innere Befruchtungsvorgänge).

Wie man es in der Hand hat, durch geeignete Behandlung der Eier vor der Besamung abnorme Befruchtungen sei es Bastardierung sei es Polyspermie zu erzeugen, so kann man auch durch Einwirkung chemischer Agentien auf normal besamte Eier den weiteren Verlauf der Prozesse, die sich im Inneren des Eies abspielen und mit der Konjugation des Ei- und Spermakerns enden, durch geeignetes Verfahren umgestalten, ohne daß dabei das befruchtete Ei zu Grunde geht.

Unsere im speziellen Teil dargestellten Beobachtungen haben dargethan, daß man die Kopulation der Kerne entweder nur verzögern oder dauernd verhindern kann. Das erstere gelingt mittelst einer 0.05 $^0/_0$ Chininlösung, welche 1 Minute nach der Befruchtung während 10 Minuten auf die Eizellen angewandt wird. Da das Hantelstadium erst nach 2 Stunden eintritt, während es normalerweise ca. $^3/_4$ Stunden nach der Kopulation der Kerne sich ausbildet, können wir schließen, daß letztere um eine volle Stunde verzögert wird. In der Zeit der Ruhe fehlt im Ei die Strahlung; erst wenn diese wieder zur Geltung kommt, geht der Befruchtungsprozeß seinem Ende entgegen, und im weiteren Verlauf teilen sich die Eier nahezu in normaler Weise. Mit der Verlangsamung der inneren Befruchtung hängt es zusammen, daß der Spermakern, wie wenigstens in einigen Fällen durch direkte Beobachtung festgestellt werden konnte, nicht als kompakter Körper mit dem Ei-

kern zusammentrifft, sondern zuvor zu einem Bläschen umgewandelt wird.

Ob durch verstärkte Chininwirkung die normale Vereinigung der Kerne dauernd verhindert werden kann, haben wir nicht untersucht; es ist aber sehr wahrscheinlich und wird sich wohl durch methodisch durchgeführte Beobachtungen, die wir uns vorbehalten, erweisen lassen, da das Resultat durch das so ähnlich wirkende Chloral vollkommen erreicht werden kann.

Wenn wir die Untersuchungsreihen über die Chloralwirkung überblicken, so haben sie sämmtlich das Gemeinsame, daß es nirgends zu einer normalen Befruchtung kommt. Dieses Resultat ist zweifellos bei der ersten und dritten Serie, bei denen wir mit Bestimmtheit haben verfolgen können, daß Eikern und Spermakern getrennt blieben, ein jeder für sich Veränderungen eingingen und sich teilten. Für die zweite Serie fehlten uns die entscheidenden Stadien; wenn man aber bedenkt, daß sie zeitlich sich zwischen beide schiebt, daß die Behandlungsweise die gleiche war und daß die Anfänge einer gesonderten Metamorphose von Ei- und Spermakern haben beobachtet werden können, so schwinden wohl alle Zweifel daran, daß auch hier die innere Befruchtung nicht zum Abschluß gelangt ist.

Bei Serie 4 begann die Chloralbehandlung mit dem Moment, wo beide Kerne schon dicht zusammengefügt waren, und die Zusammenfügung ihrer Substanzen nahm sogar die erste Zeit über noch weiter zu. Nach der Ansicht van Beneden's wäre hiermit die Befruchtung schon vollendet, denn nach ihm sollen ja die Substanzen beider Kerne sich überhaupt nicht durchdringen, sondern während aller Furchungsstadien nebeneinander hergehen. Indessen wir glauben, daß gerade die an der 4. Serie gewonnenen Resultate der Ansicht v. Beneden's bestimmt widersprechen, wir glauben behaupten zu können, daß selbst in diesen Fällen die Befruchtung nicht abgeschlossen war.

Um unsere Ansicht zu beweisen, müssen wir etwas weiter ausholen und im Zusammenhang die Veränderungen besprechen, welche die Geschlechtskerne erleiden, wenn sie an der Kopulation verhindert werden. Dieselben beginnen bei dem Spermakern, welcher anwächst und sich mit Flüssigkeit umgiebt (Taf. III Fig. 12 u. 16, Taf. V, Fig. 1). Darin ist prinzipiell nichts Neues gegeben, da auch bei Eiern, wo die Befruchtung vor Ablauf der Eireife erfolgt, eine Vergrößerung und Vakuolisierung des Spermakerns eintritt in der Zeit, wo er genötigt ist, im Protoplasma

des Eies zu verweilen, bis der Eikern die zur Vereinigung nötige Beschaffenheit angenommen hat. In diesem Zustand ist daher eine normale Befruchtung noch möglich, wie uns die Chininserie gelehrt hat.

Dauern die eine Befruchtung hindernden Ursachen fort, so tritt die faserige Differenzierung beider Kerne ein und damit erlischt — wenigstens müssen wir dieses Resultat aus unseren Beobachtungen entnehmen — die Fähigkeit der Kerne sich zu vereinigen. Bei der faserigen Differenzierung ist nun folgendes von Wichtigkeit. Anfänglich verhalten sich beide Kerne verschieden, so daß man lange Zeit Spermakern und Eikern unterscheiden kann; der letztere durchläuft wahrscheinlich konstant das Fächerstadium, das Stadium einer einpoligen Faseranordnung (Taf. III, Fig. 17, Taf. V, Fig. 17—19), auf dem von einem Punkt die achromatischen Fäden radial ausstrahlen, während die chromatischen Teile an ihren Enden angebracht sind. Der Kern wird dann allmählich 4polig, indem die chromatischen Schlingen einen zentralen Haufen bilden, die Spindelfasern dagegen von 4 Punkten aus divergierend an und in diesen Haufen hineintreten (Taf III, Fig. 13, 18, 19; Taf. V, Fig. 22 u. 23).

Der Spermakern wandelt sich zu analogen Figuren um, nur daß er kompakter bleibt. Der Fächerform ließe sich das Stadium zur Seite setzen, wo am Körper des Spermakerns ein achromatischer stielartiger Aufsatz angefügt ist (Taf. III, Fig. 16; Taf. V, Fig. 1); der 4poligen Anordnung muß die Ordenssternform verglichen werden. Denn auch hier haben wir eine zentrale wenn auch viel gedrungenere Anhäufung von Chromatin, welcher 4, häufig auch nur 3 Kegel von Spindelfasern aufsitzen (Taf. III, Fig. 12, 18, 19 sp.; Taf. V, Fig. 16, 18, 25 etc.). Wir glauben, daß diese Unterschiede, so interessant sie an und für sich sind, keine grössere Bedeutung besitzen. Sie hängen damit zusammen, daß der Eikern sich schon lange im Eiplasma befindet und durch Aufnahme von Flüssigkeit in eine Blase umgewandelt hat, in welcher die Kernteile zu einem Netz auseinandergelegt sind. Obwohl nun auch der Spermakern sich mit Kernsaft imbibiert hat, so ist seine Masse doch nicht in gleichem Maße gelockert. Wir sind. fest überzeugt, daß bei der Chloralisierung von Eiern, in denen vermöge der verlangsamten Art der Befruchtung der Spermakern ein retikuliertes Bläschen und dadurch dem Eikern ähnlich geworden ist, die Unterschiede schwinden werden. Wahrscheinlich wird dann auch der Vorsprung schwinden, welchen der Eikern nament-

lich bei der dritten Serie vor dem Spermakern in der faserigen Differenzierung gewonnen hat, und sie werden dann beide gleichzeitig das Stadium des Rosettenkerns erreichen.

Unter dem Namen „Rosettenkerne“ haben wir Kernfiguren beschrieben, bei denen das Chromatin eine Umlagerung von den zentralen Partien an die Kernpole erfahren hat (Taf. III, Fig. 22; Taf. V, Fig. 26—31). Die achromatischen Teile sind dabei im Verhältniß zu früheren Stadien weniger verändert; nach wie vor divergiren die Fasern von den einzelnen Polen, um einen benachbarten oder einen opponierten Pol zu erreichen. Den Namen haben wir daher auch mit Rücksicht auf die Anordnung des Chromatins gewählt, weil dasselbe aus kleinen Stäbchen besteht, welche um jeden Pol in Form einer Rosette angeordnet sind.

Auffallend ist auf diesem Stadium die Anzahl der Kernpole. Dieselbe beträgt nicht immer, wie es auf dem früheren Stadium die Regel ist, 4, sondern kann kleiner oder auch größer sein. Außer 4poligen giebt es 3, 5 und 6polige Rosettenkerne. Im ersteren Fall ist 1 Pol offenbar rückgebildet worden, in den beiden letzteren sind 2 Pole neu entstanden. Diese Unterschiede hängen wahrscheinlich mit der geringeren oder größeren Verlangsamung zusammen, welche unter dem Einfluß des Chlorals die Kernmetamorphose erfahren hat. Durch unsere Untersuchungen wissen wir, daß auch bei gewöhnlicher Zweiteilung des Kerns Tetrasterfiguren entstehen, wenn durch äußere Einflüsse der normale Verlauf des Prozesses behindert wird. Es ist das nicht ohne Interesse; denn wir können daraus entnehmen, daß die Kräfte, welche im Kern auf eine polare Differenzierung hinarbeiten, ununterbrochen thätig sind, auch wenn sie an einer Entfaltung nach außen (Spindelbildung) verhindert sind. Ob 3, 4 oder 6polige Kerne entstehen, hängt davon ab, auf welchem Zustand innerer Veränderung dem Kern die Möglichkeit gegeben wird, die faserige Umwandlung zu erleiden. Dieser Moment kann eintreten, wo der Kern noch nicht vollkommen zur Vierteilung vorbereitet ist. Dann wird durch Anlage von 4 Polen der Versuch einer solchen gemacht, im weiteren Verlauf aber erlahmt gleichsam die Tendenz und es entstehen — um gleich auf unsere Fälle die Nutzanwendung zu machen — die 3 oder 2poligen Rosettenkerne; oder der Moment ist später eingetreten, dann bilden sich 5 oder sogar 6 Pole aus.

Insofern bei den Rosettenkernen eine Verlagerung des ursprünglich zentral angehäuften Chromatins an die Kernenden sich

vollzogen hat, lassen sie sich als Teilungsfiguren deuten; die Chromatinrosetten an den Polen sind dann den Seitenplatten bei der normalen Kernteilung zu vergleichen, die mediane Anhäufung des Chromatins, welche vorausgeht, wäre dann eine äußerst unregelmäßig entwickelte Mittelplatte. Vielleicht gelingt es auch, Spaltung der Stäbchen der Mittelplatte nachzuweisen und so die Übereinstimmung mit gewöhnlicher Kernteilung noch klarer darzuthun.

Immerhin sind die Unterschiede zur normalen Kernteilung schon um diese Zeit nicht unbedeutend; ganz abgesehen davon, daß eine größere Polanzahl vorhanden ist, haben auch die achromatischen Fäden nie eine so reguläre Anordnung. Man vergleiche nur die bei Polyspermie entstehenden Tetrasterfiguren (Taf. I, Fig. 16 u. 21; Taf. III, Fig. 3) und man wird ebenfalls finden, daß die größere Zahl der Kernecken nicht den einzigen Unterschied ausmacht.

Die Unterschiede zur normalen Teilung werden im Verlauf noch deutlicher, insofern zwar eine Bildung von Tochterkernen eintritt, der ganze Prozeß aber durch Verschmelzung der Teilstücke wieder rückgängig gemacht wird (Taf. IV, Fig. 3, 4, 8, 12, 13, 15, 5). Dafür daß die Teilstücke nicht zu weiterer Entwicklung befähigt sind, sondern sich wieder vereinigen, kann man die Chloralbehandlung nicht verantwortlich machen. Wenn 3 Stunden verflossen sind, sehen wir in anderen Fällen, daß die Eier und ihre Kerne sich so weit erholt haben, daß eine wenn auch etwas pathologische Teilung möglich ist. Auch stehen die Kernumwandlungen nicht ohne jede Analogie. Bei den Infusorien z. B. teilen sich vielfach Haupt- und Nebenkerne ebenfalls in Teilstücke, welche nach einiger Zeit wiederum verschmelzen. Es müssen somit andere Ursachen den Ausschlag geben und diese erblicken wir darin, daß Eikerne und Spermakerne getrennte Kerne mit unvollkommenen Eigenschaften sind. Was die Befruchtung leisten soll, eine Ausstattung der Kerne mit allen zum Zellenleben nötigen Eigenschaften, ist eben unterblieben.

Diesen Punkt im Auge behaltend kehren wir nun wieder zur Frage zurück, ob die Fälle der Serie 4, in denen Ei- und Spermakerne sich zur Zeit der Chloraleinwirkung schon aneinander gelegt hatten, eine normale Befruchtung repräsentieren (Taf. VI, Fig. 12—15). Wir glauben die Frage verneinen zu sollen, weil die Umbildungen des scheinbar einheitlichen Kerns dieselben sind, wie die Umbildungen der getrennten Geschlechtskerne. Entschei-

dend sind die Endstadien. Wir erhalten einen rosettenförmigen Kern, welcher so viel Ecken hat, wie sonst Spermakern und Eikern zusammen genommen, als wäre er durch eine Aneinanderlagerung beider gebildet (Taf. VI, Fig. 6, 7, 18, 19, 21, 22). Wir haben ganz dieselbe Figur erhalten, wenn die faserig differenzierten Geschlechtskerne erst später zusammentreten. Bei der Teilung ergiebt sich, daß der Kern nicht die Qualitäten zu einer normalen Fortentwicklung besessen hat. Denn alle Kernstücke verschmelzen nach einiger Zeit von neuem (Taf. VI, Fig. 25, 26, 27; Taf. VII, Fig. 4—9). Und so sprechen wir uns dahin aus, daß eine einfache Aneinanderlagerung der Kerne nicht für die Befruchtung ausreicht, sondern eine Durchdringung beider Substanzen erforderlich ist. Indem Chloral die Fähigkeit besitzt, auch da, wo die Kerne schon fest aneinander gelagert sind, die weitere Durchdringung beider Substanzen zu verhindern, hebt es auch in vorgerückten Fällen die Befruchtung auf.

Es wäre nun erwünscht, die Richtigkeit dieser Ansicht weiter experimentell zu prüfen. Man müßte noch einige spätere Serien (20, 25 u. 30 Minuten nach der Besamung) anfertigen; bei einer derselben müßte gerade der Moment der gänzlich vollzogenen Befruchtung getroffen sein, ohne daß die Vorbereitung zur Teilung schon erkennbar wäre. Wahrscheinlich würde dann der Kern ganz andere Bilder liefern. Leider haben wir zur Prüfung dieser Frage kein Material und müssen den Entscheid derselben ebenfalls auf später vertagen.

Bei Erwägung aller Beobachtungen, welche die Umbildung der isolierten und der vereinigten Geschlechtskerne betreffen, sind wir zum Resultat gekommen, daß nur dann, wenn die Substanzen von Ei- und Spermakern sich ganz durchdringen, Kerne entstehen, welche mit allen für die weitere Entwicklung nötigen Lebenseigenschaften ausgerüstet sind, daß aber dieser Satz insoweit einer Einschränkung bedarf, als auch ohne Vereinigung die Kerne gewisse Eigenschaften gewinnen, die ihnen ursprünglich fehlten. Es wird dies sofort klar, wenn wir die Kerne der Geschlechtszellen vergleichen in den Fällen, wo eine Vermischung der Sexualprodukte unterblieben ist, und in denjenigen, wo eine Besamung ohne darauf folgende Vereinigung der Kerne stattgefunden hat. Der Kern der unbesamten Eizelle bleibt auch bei

langem Liegen ein Kernbläschen; es ist gar nicht anzunehmen, daß durch die Einwirkung des Chlorals darin ein Wandel herbeigeführt werden würde, wenn wir auch die experimentelle Prüfung dieser Frage, welche ja leicht auszuführen ist, zu einem sicheren Entscheid für notwendig halten. Die Kerne der Spermatozoen bleiben, wie wir durch vielfache Versuche wissen, unter allen Umständen, auch bei Chloralisierung unverändert. Dagegen erhalten Eikern und Spermakern die Eigenschaft, ein jeder für sich getrennt sich faserig zu differenzieren und achromatische Fäden und chromatische Schleifen zu bilden, wenn Ei und Samenzellen miteinander vereinigt werden.

Daher lohnt es sich die Ursachen zu untersuchen, welche die Umstimmung der Kerne herbeiführen. Wenn der Eikern die Fähigkeit zur faserigen Differenzierung und eine wenn auch unvollkommene Teilfähigkeit nur im befruchteten Eiplasma gewinnt, so kann zweierlei dazu die Veranlassung sein, entweder die Veränderung des Eiplasmas selbst, welche durch die Vermischung mit Substanzen des Spermakörpers oder durch den thatsächlich nachweisbaren Stoffaustausch zwischen Protoplasma und Spermakern herbeigeführt wird, oder es ist irgend eine Art Fernwirkung, welche der Spermakern auf den Eikern ausübt. Wir haben kein Mittel, diese Frage nach der einen oder anderen Seite direkt zu entscheiden, da es wohl kaum möglich sein wird, eine Befruchtung so zu bewerkstelligen, daß nur die accessorischen Bestandteile des Spermatozoons ohne den Spermakern bei der Befruchtung eindringen.

Um die Veränderungen des Spermakerns zu erklären, stehen uns ebenfalls 2 Möglichkeiten zu Gebote: entweder ist es ein vom Eikern ausgehender Einfluß, oder der Einfluß der veränderten Umgebung, mit andern Worten der Einfluß des Eiplasmas. Im vorliegenden Fall können wir nun die erstere Möglichkeit ausschließen; durch Schütteln von Eiern kann man Bruchstücke ablösen, welche keinen Kern enthalten, in welche aber die Spermatozoen eindringen und sich zu Spindeln umbilden (Taf. II, Fig. 15 u. 18). Daraus geht mit Sicherheit das Eine hervor, daß das Eiplasma allein ausreicht, um den Spermakernen die Fähigkeit zur Spindelbildung zu verleihen. Daß die Art der Umwandlung eine andere ist, daß namentlich keine Rosettenkerne entstehen, wäre aus der mangelnden Einwirkung des Chlorals leicht verständlich; es wäre aber auch denkbar, daß das

Plasma in den abgelösten Stücken ein anderes ist als in dem Ei mit Eikern. Man berücksichtige, daß ja dieser in Umbildung begriffen ist, daß dadurch fortdauernd eine Wechselwirkung mit dem Protoplasma unterhalten wird, vermöge deren dasselbe jedenfalls noch weitere Veränderungen erfährt. Wir haben allen Grund anzunehmen, daß solche Veränderungen beständig vor sich gehen und daß das Protoplasma während aller der geschilderten Veränderungen zu keiner Zeit das nämliche bleibt. Um diese Auffassung noch mehr zu befestigen, verweisen wir auf die höchst interessanten gelegentlichen Beobachtungen, die wir in bezug auf das Eindringen von Spermatozoen in unreife Eier gemacht haben. Die äußeren Bedingungen waren in allen diesen Fällen die gleichen (Chloralbehandlung); aber wie ganz verschieden das Verhalten der Spermatozoen? Bei Eiern mit Keimbläschen gar keine Veränderung, keine Reaktion von seiten des Protoplasma's des Eies; wenn die Richtungsspindel angelegt ist, bleiben die Köpfe der Spermatozoen unverändert, aber die Strahlung des Plasma's ist schwach ausgeprägt (Taf. VII, Fig. 2). Erst nach der Bildung des ersten Richtungskörpers fängt der Stoffaustausch zwischen Spermakern und Eiplasma an, ohne daß aber dabei eine faserige Umbildung vorkäme. Die Ei- und Spermakerne bleiben Bläschen (Taf. VII, Fig. 1).

Wie in so vielen Fällen so werden wir auch hier wieder dazu geführt in den lebenden Substanzen eine Komplikation der Vorgänge auzunehmen, welche jeder mechanischen Erklärung spottet. Damit soll nun keineswegs gesagt sein, daß wir überhaupt nicht versuchen sollen, allmählich eine mechanische Erklärung der Lebensvorgänge anzustreben und vorzubereiten; nur werden wir uns mit wenigem bescheiden und schon uns zufrieden geben müssen, wenn es gelingt, einen komplizierten Lebensvorgang in seine einzelnen Componenten aufzulösen. Auch im Folgenden soll nichts anderes angestrebt werden, wenn wir nun noch zum Schluß die Frage aufwerfen, welche Kräfte im Ei thätig sind, um bei normaler Befruchtung das Zusammentreffen von Ei- und Spermakern herbeizuführen.

Da durch Chloralwirkung die Befruchtung aufgehoben wird, muß diese chemische Substanz die Fähigkeit besitzen, vorübergehend die treibenden Kräfte zu beseitigen. Über ihre Wirkungsweise können wir uns mit Bestimmtheit dahin äußern, daß eine Lähmung des Protoplasma's eintritt. Die Eizelle verliert vorüber-

gehend die Fähigkeit der Teilung; die Strahlungen, welche höchstwahrscheinlich auch Kontraktionserscheinungen sind, hören auf, die Spermatozoen verlieren ihre Beweglichkeit. Alles das macht es sehr wahrscheinlich, daß die Kontraktilität des Protoplasma für das Zusammentreffen der Teile von großer Bedeutung ist. Wir stellen uns die Verhältnisse folgendermaßen vor. Im normal funktionierenden Ei erzeugt das Spermatozoon einen Reiz und löst dadurch eine Kontraktion aus, welche zur Folge hat, daß die im Protoplasma eingebetteten Körper, Ei- und Spermakern, durch eine konzentrische Bewegung nach ein und demselben Punkt transportiert werden.

Man könnte dieser Erklärung den Einwand machen, daß damit noch nicht verständlich sei, warum eine Annäherung der Kerne auch dann unterbleibt, wenn die Chloralwirkung vorüber ist und die Kontraktilität des Eies von neuem erwacht. Allein dann sind die Bedingungen durchaus andere; dann wirken beide Kerne, ein jeder mit mehreren Ecken, als Reizzentren. Anstatt daß nur der Spermakern Ausgangspunkt einer einfachen Strahlungsfigur ist, sind solche sowohl an seinen Polen wie an denen des Eikerns in größerer Zahl entwickelt; ja in einiger Entfernung von den Kernen frei im Protoplasma können Strahlungen auftreten.

Die Annahme, daß das Protoplasma eine Lähmung erfahren hat, reicht zur Erklärung für das Unterbleiben der Befruchtung nicht aus in den Fällen, wo Ei- und Spermakerne bei einander liegen; denn dann hat ja das Protoplasma seine Rolle ausgespielt. Wenn auch nicht in gleichem Maße, so muß durch Chloral auch die Substanz des Kernes eine Lähmung erfahren. Das würde mit den Erfahrungen stimmen, welche wir über Chloralwirkung bei Teilung gesammelt haben, wo ja auch die Weiterentwicklung des Kerns unterbleibt. Immerhin ist die Lähmung des Kerns nicht so langdauernd; das Protoplasma ist noch wie tot und unbeweglich, wenn im Kerne schon Veränderungen beginnen, wie die Vakuolisierung und später auch die faserige und chromatische Umbildung.

Wir haben bis jetzt die Fälle betrachtet, wo die Besamung unter normalen Verhältnissen erfolgt war und nur der weitere Fortgang der Befruchtung eine Störung erfahren hatte. In das Kapitel, welches die Veränderung der inneren Befruchtung behandelt, gehören aber auch die Erscheinungen, welche eintreten, wenn viele Spermakerne in das Plasma der Eizelle aufgenommen werden. Auch dann begegnen wir interessanten Bildern, welche in

den Mechanismus der Befruchtungsvorgänge uns manchen Einblick gestatten.

Wenn wir zunächst uns über das Schicksal des Eikerns orientieren, so sind 3 Fälle möglich und von uns auch direkt beobachtet worden: 1. Der Eikern kopuliert nur mit 1 Spermakern; bei der Teilung bildet er dann eine einfache Spindel. 2. Der Eikern kopuliert mit 2 und mehr Spermakernen und erzeugt 4- und mehrpolige karyokinetische Figuren (Taf. I, Fig. 1—4). 3. Der Eikern bleibt für sich und nimmt namentlich durch Flüssigkeitsaufnahme rasch an Größe zu (Taf. II, Fig. 2) Der letztgenannte Fall tritt um so häufiger ein, je bedeutender die Zahl der eingedrungenen Spermatozoen ist. Von vornherein hätte man wohl das Gegenteil erwarten sollen; wenn viele Spermakerne vorhanden sind, so wären die Aussichten, daß beiderlei Kerne zusammentreffen, günstiger als bei Monospermie, vorausgesetzt, daß das Zusammentreffen von mehr zufälligen Momenten herbeigeführt würde. Von diesem Gesichtspunkt aus gewinnt die Beobachtung sehr an Bedeutung, da sie uns erkennen läßt, daß die Vereinigung der Geschlechtskerne von streng geregelten Prozessen abhängt und daß die gesetzmäßige Verkettung dieser Vorgänge unter anderem auch bei Polyspermie gelöst ist.

Auch die Annahme, daß eine direkte Anziehung von Kern zu Kern vorliegt, erscheint ausgeschlossen, denn auch hierfür würde hochgradige Polyspermie günstige Bedingungen liefern, weil unter vielen Spermakernen einige, vermöge größerer Nähe, in günstigere Lage zum Eikern kommen müssen.

Dagegen erblicken wir in der behinderten Vereinigung der Kerne einen neuen Beweis für die Ansicht, daß die normale Erledigung der Befruchtung durch eine gesetzmäßig verlaufende Kontraktion des Plasma's herbeigeführt wird, eine Kontraktion, welche Eikern und Spermakern im Mittelpunkt der Kontraktionsbewegung zusammentreibt. Es ist selbstverständlich, daß die Vorbedingungen hierfür nur gegeben sind, wenn ein einziger einheitlich wirkender Reizerreger in das Ei eingeführt wird, daß dagegen die Aussichten um so ungünstiger werden müssen und dem Zufall bei der Vereinigung der Kerne ein um so weiterer Spielraum eingeräumt sein muß, je mehr Spermakerne im Ei vorhanden sind.

Bei der Polyspermie kommt noch eine zweite Abnormität zur Beobachtung, welche in gleichem Sinn gedeutet werden muß. Während bei normaler Befruchtung der Furchungskern und demgemäß auch die Furchungsspindel

eine *zentrale Stellung* annimmt, liegen *dieselben* bei *Polyspermie fast ausnahmslos exzentrisch*. Namentlich, wenn nur ein Spermatozoon mit dem Eikern kopuliert hat und die Befruchtung, soweit es sich um Vereinigung der Kerne handelt, möglichst normal verlaufen ist, scheint eine periphere Lage der Spindel die Regel zu sein. Unregelmäßigkeit der Kontraktionsbewegung infolge zahlreicher Reizerreger ist auch hier wohl die naturgemäßeste Erklärung. Die Unregelmäßigkeit wird sich mindern, je mehr Spermakerne in den Eikern aufgenommen werden, weil dann seine Wichtigkeit als Kraftzentrum sowohl absolut durch Vermehrung seiner Masse, als auch relativ durch Verminderung konkurrierender Faktoren zunehmen wird.

Dementsprechend liegen die aus vielbefruchteten Furchungskernen hervorgehenden karyokinetischen Figuren mehr oder minder zentral.

Wir nehmen hier die Gelegenheit wahr, auf die exzentrische Lage der Spindel aufmerksam zu machen, welche auch zu beobachten ist, wenn Eier vor der Befruchtung erwärmt werden. War die Wärmeeinwirkung nicht allzu stark, so dringt meist nur ein Spermatozoon ein; es kann der Spermakern auch mit dem Eikern verschmelzen. Trotzdem bleiben Furchungskern und Furchungsspindel exzentrisch, weil die Kontraktilität des Protoplasma durch Wärme gelähmt wird.

Gehen wir nun zur Vereinigung der Kerne selbst über, so haben wir mit Sicherheit feststellen können, daß zwei bis drei Spermakerne mit dem Eikern verschmelzen. Von vornherein muß man schon erwarten, daß die Spermakerne nicht auf einmal dem Eikern einverleibt worden sind, sondern sich ihm nach und nach angefügt haben. Die Beobachtung giebt uns hierfür Beweise an die Hand. Die Substanz von 1—2 Spermakernen kann dem Retikulum des Eikernes schon fast vollkommen eingefügt sein, wenn andere erst eine oberflächliche Anlagerung erzielt haben. *Die Fähigkeit des Eikernes, Spermakerne in sich aufzunehmen, scheint somit eine bedeutende zu sein und fortzudauern, auch wenn schon eine oder mehrere Kopulationen stattgefunden haben.*

Vielfach spricht man bei der Befruchtung von dem Ausgleich geschlechtlicher Differenz und denkt dabei an die Verhältnisse chemischer Verbindungen, wo ein Ausgleich d. h. Neutralisierung eintritt, wenn Säuren und Alkalien vereinigt werden. Das scheint nun nach dem Obigen eine schlechte Analogie zu sein, da die

Affinitäten des Eikernes zur Substanz des Spermakernes nicht vermindert werden, wenn er männliche Kernsubstanz in sich aufgenommen hat.

Bei den von uns erzielten Polyspermieen ist noch von Wichtigkeit das Schicksal der Spermakerne, welche nicht mit dem Eikern sich vereinigen. Diese erleiden die faserige Differenzierung und gehen in kleine Spindelchen über, welche sich nur durch ihre geringere Grösse von regulären Furchungsspindeln unterscheiden, im weiteren Verlauf sich auch wie diese teilen. Was aus den Teilprodukten wird, bedarf genauerer Untersuchung.

Wir begegnen hier auf's neue der Eigenschaft des Spermakerns, im Ei seine Teilungsfähigkeit wiederzugewinnen, wenn er vom weiblichen Kern getrennt gehalten wird; wir haben oben schon auseinandergesetzt, warum wir annehmen müssen, daß für die Veränderung allein das Plasma des reifen Eies maßgebend ist; ebenso haben wir schon die einzelnen Möglichkeiten erörtert, welche herangezogen werden können, um zu erklären, weshalb der Spermakern in vielen Fällen zu einer Spindel wird, während er in anderen Fällen (bei Behinderung der inneren Befruchtung durch Chloral) eine vierpolige Figur erzeugt, so daß wir nicht nötig haben, darauf zurückzukommen.

Spermaspindeln können sich mit dem in Teilung begriffenen Furchungskern nachträglich vereinigen, indem sie mit einem Ende in einen der Pole desselben eintreten. Prinzipiell ist dieser Vorgang derselbe. als wenn die vierpoligen Kerne, welche entstehen, wenn Eikern und Spermakern durch Chloral an der Vereinigung verhindert werden, durch Aneinanderlagerung sich zu einer sechs- oder siebenpoligen Figur kombinieren. Man kann das nicht als eine nachträgliche Befruchtung auffassen, denn von den beiden teilweise vereinigten Kernen kommen jedesmal nur die einander zugewandten Enden zu der für das Wesen der Befruchtung nötigen innigen Durchdringung, während die anderen Enden getrennt bleiben.

Vierter Abschnitt.

Abänderung der Furchungserscheinungen.

Den Furchungsprozeß haben wir bei unseren Experimenten in dreifacher Weise verändert: 1. indem wir die Eier nach der Befruchtung mit Reagentien behandelten, 2. indem wir die Eier polysperm befruchteten, 3. indem wir das Zustandekommen der Befruchtung verhinderten. Wir haben dabei die auffallende Wahrnehmung gemacht, daß bei der ersten und zweiten Behandlungsweise sehr viel ähnliche Bilder entstehen, welche wir an erster Stelle besprechen wollen.

Manche der von uns angewandten Mittel haben auf den Verlauf der Furchung so gut wie gar keinen Einfluß, entweder weil sie durch die Dotterhaut am Eindringen behindert sind, oder, was das Wahrscheinlichere ist, weil sie die für den Furchungsprozeß wichtigen Eigenschaften des Eies nicht verändern. So scheinen Morphium, Strychnin, Nikotin etc. nur insofern zu wirken, als sie im allgemeinen schädlich sind und die Lebensfähigkeit des Eies herabsetzen.

Dagegen sind Chinin und Chloral für uns von großer Wichtigkeit, da beide nicht allein den Furchungsprozeß verzögern, sondern sogar bewirken, daß vorbereitende Kern- und Dotterveränderungen wieder rückgängig gemacht werden. Die Unterschiede zwischen beiden Reagentien sind von keiner prinzipiellen Bedeutung, so daß wir sie hier unter Hinweis auf den speziellen Teil unberücksichtigt lassen können.

Wenn der Furchungskern schon die Form der Spindel angenommen hat und der Chloral- oder Chininwirkung unterliegt, so verliert er seine faserige Beschaffenheit und wird ein Haufen kleiner Bläschen, wie sie auch bei der Kernteilung durch Umwandlung der Chromatinteilchen entstehen. Die Bläschen verschmelzen zu einem einheitlichen Kern, welcher wesentlich größer ist als der Furchungskern. Wenn nun die Eizelle sich erholt, beginnt auch wieder die unterbrochene Kernteilung (Taf. III, Fig. 1—5 und Fig. 6—11); nur entstehen jetzt an 4 ungefähr gleich weit voneinander entfernten Punkten der Oberfläche Strahlungen und im weiteren Verlauf 4 Spindeln, welche so im Viereck angeordnet sind, daß je zwei Enden benachbarter Spindeln

im Mittelpunkt einer Strahlung zusammentreffen. Dazu kann noch eine fünfte diagonal gestellte Spindel kommen, was es mit sich bringt, daß zwei gegenüberliegende Strahlungen je 3 Spindelenden enthalten (Fig. 3). Andererseits kann aber auch eine von den 4 typischen Spindeln verlagert sein, die 3 anderen schließen dann zu einem Dreieck zusammen (Fig. 1), die 4. Spindel beginnt mit einem Ende an einer Spitze des Dreiecks und ragt mit dem andern Ende in den Dotter hinein. Wenn es nunmehr zur Teilung kommt, entstehen in allen Fällen 4 Kerne, ein Zeichen, daß jene Variationen des Prozesses von untergeordneter Bedeutung sind. Die 4 Kerne teilen sich im weiteren Verlauf durch regelmäßig erfolgende Spindelbildung weiter. Nur das Protoplasma verhält sich lange Zeit über pathologisch. Bei Chinin weniger als bei Chloral ist es gelähmt und kann infolgedessen den Veränderungen des Kerns nicht folgen. Gewöhnlich werden die Teilungen unvollständig.

Aus der Reihe der mitgeteilten Erscheinungen ist für uns das Wichtigste, daß der Kern in seinen Umgestaltungen aufgehalten wird und sich wesentlich verspätet teilt; in der Zwischenzeit hat er sich aber durch Substanzaufnahme vergrößert, wodurch es ihm ermöglicht wird, sich direkt in 4 Stücke zu teilen. Der gesamte Entwicklungsprozeß würde somit nicht verlangsamt werden, wenn nicht durch die Reagentienbehandlung das Protoplasma dauernd geschädigt und das Ineinandergreifen der Kern- und Protoplasmaveränderungen gestört worden wäre.

Während der normalen Furchungsstadien finden am Kern 2 Vorgänge statt, eine Zunahme an Masse (Wachstum) und die karyokinetischen Prozesse (Metamorphose). Sie laufen parallel und in gleichem Rhythmus nebeneinander her. *Chinin und Chloral stören nur die Karyokinese, während die Substanzaufnahme daneben unbehindert sich vollzieht;* schon früher haben wir darauf aufmerksam gemacht, daß ein Kern gezwungen werden kann zu wachsen, ohne sich zu teilen, daß in dieser Hinsicht kein enger Zusammenhang zwischen beiden Prozessen besteht; um so auffallender ist es, daß die Teilung vom Wachstum beeinflußt wird, indem eine bestimmte Größenzunahme des Kerns direkte Vierteilungen veranlaßt.

Ähnliche Kernveränderungen, wie wir sie durch Chinin und Chloral herbeigeführt haben, treten auch bei Polyspermie ein. Mag die Vereinigung des Eikerns mit 2 Spermakernen durch

längeres Liegen, durch Behandlung mit Chinin, Chloral, Nikotin, Strychnin etc. eingetreten sein, stets bildet sich der Kern direkt zum Tetraster um; auch die soeben erwähnten Modifikationen des Tetrasters kommen vor; es kann eine diagonale Spindel noch hinzutreten oder es kann eine Spindel mit einem Ende ausscheiden worauf die übrigen zu einem Dreieck zusammenschließen. In allen diesen Fällen sind 4 Kerne und 4 meist gut von einander getrennte Furchungskugeln das Produkt der ersten Teilung.

Neue aber nach gleichem Prinzip aufgebaute Kernfiguren entstehen, wenn mehr als 2 Spermakerne zum Eikern geschlagen werden. Die Zahl der Kernpole nimmt ganz bedeutend zu, wahrscheinlich im allgemeinen in einem gewissen Verhältnis zur Zahl der zur Vereinigung gelangten Spermakerne. Es entstehen Kernfiguren mit 7—19 Spindeln und 5- 8 Polen. Die Vierteilung wird durch unregelmäßige Teilungen in 3, 6, 8 Stücke oder endlich in viele Stücke ersetzt. Die Teilung verliert ihren normalen Charakter auch insofern, als die Teilstücke lange Zeit durch Brücken untereinander verbunden bleiben oder sich überhaupt nicht vollkommen voneinander trennen.

Da in allen Fällen eine Schädigung der Eizelle durch Reagentien oder mechanische Eingriffe der Polyspermie vorangegangen ist, so könnte man zweifelhaft sein, inwieweit die Schädlichkeiten für die eigentümliche Art der Kernteilung verantwortlich gemacht werden müssen, wenn nicht 2 Momente klar beweisen, daß mindestens in vielen Fällen die Polyspermie allein genügt, um die wichtigen Erscheinungen hervorzurufen.

1. Bei Erzeugung von Polyspermie durch Morphium, Strychnin, Nikotin, also Reagentien, welche den Teilungsprozeß an und für sich gar nicht oder fast gar nicht beeinflussen, treten Tetraster und Polyasterfiguren auf, welche nicht aus Reagentienwirkung, sondern nur aus Vielbefruchtung erklärt werden können.

2. Von Wichtigkeit ist der Zeitpunkt, in dem die Vierteilung eintritt. Bei doppelt befruchteten Eiern tritt die Vierteilung ein, wo andere normal befruchtete Eier sich zweiteilen; sie ist also nicht verzögert, wie es sein müßte, wenn die Anwendung von Reagentien Ursache wäre.

Beide Momente zusammengenommen beweisen unzweifelhaft, daß die Doppelbefruchtung mit Notwendigkeit zur Vierteilung führt.

Da das Eindringen von 2 Spermatozoen in das Ei schon

wiederholt vermutungsweise als Ursache der Zwillingsbildung angesehen worden ist, so liegt es nah, die direkte Vierteilung als ersten Anfang einer Zwillingsbildung zu deuten. Dieser Idee nachgehend, haben wir versucht, ob sich vielleicht die Vierteilung und die daran anschließenden weiteren Furchungen bei Doppelbefruchtung von den entsprechenden Vorgängen bei chloralisierten, monospermen Eiern unterscheiden lassen. Es könnte ja durch die Anordnung der Furchungskugeln der Beweis beigebracht werden, daß eine Doppelanlage im Ei vorhanden ist. Trotz wiederholter Versuche sind unsere Bemühungen resultatlos geblieben. Auch liegt zunächst wenigstens eine andere Möglichkeit der Erklärung näher. Durch das Eindringen von 2 Spermakernen ist der Eikern in einen Zustand versetzt, den er bei Chloralbehandlung ebenfalls erreicht; er hat bedeutend an Masse zugenommen und einen Umfang gewonnen, den er dort wesentlich später und auf anderem Wege, durch Ernährung vom Protoplasma aus, erreicht hat; es wäre wohl denkbar, daß eine gewisse Größenzunahme des Kerns allein schon ausreicht Vierteilung zu erzeugen, gleichgültig ob dieselbe durch abnormes Wachstum oder durch Aufnahme eines zweiten Spermatozoon veranlaßt wurde.

Wir wollen hiermit nicht sagen, daß einem jeden Wachstum des Kerns dieser Einfluß auf die Teilung zukommt. Bekanntlich vergrößern sich manche Kerne, wie das Keimbläschen des Eies zu abnormer Größe und verlieren dabei jede Teilfähigkeit. Man wird daher zu der Annahme gezwungen, daß beim Wachstum des Kerns eine bestimmte Konstitution, vielleicht ein bestimmtes Mischungsverhältnis der verschiedenartigen Kernsubstanzen gewahrt bleiben muß.

Da wir auf die Frage der Zwillingsbildungen geführt worden sind, wollen wir gleich zusammenstellen, was wir hierüber bei Beobachtung der Weiterentwicklung der polyspermen Eier ermittelt haben. Während unseres Meeresaufenthalts haben wir dieser zuerst von Fol angeregten Frage ganz besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Wir haben Tausende von Larven aus überfruchteten Eiern gezüchtet und auf dem Gastrula- und Pluteusstadium untersucht, da voraussichtlich um diese Zeit Zwillingsbildungen am besten hätten erkannt werden müssen. Allein unsere Ausbeute war eine ganz verschwindende, wir haben einige wenige Larven mit doppelter Gastrulaeinstülpung und einige wenige Plutei mit doppelter Spitze aufgefunden. Die geringe, höchstens ungefähr zehn betragende

Zahl von Doppelgastrulae steht in gar keinem Verhältnis zu den Tausenden von einfachen Gastrulae, welche wir aus überfruchteten Eiern gezüchtet haben, sodaß man sie keinenfalls als Beweise für die Ansicht, daß Doppelbefruchtung Doppelmißbildungen verursacht, ausnutzen kann. Immerhin möchten wir auch nicht die Theorie dadurch für widerlegt halten. Da wir vom Seeigel keine Doppelmißbildungen kennen, wäre es wohl möglich, daß diese Tiere ungünstige Organisationsbedingungen besitzen. Es könnten ja gleichwohl zwei Anlagen vorhanden gewesen sein, von denen aber nur eine sich entwickelt, die andere mit jenen wenigen Ausnahmen sich rückgebildet hätte. Wir wollen daher später noch einmal auf die Frage zurückkommen und dann mit Tieren experimentieren, welche ebenso günstige Eier wie die Seeigel haben, bei denen aber das Vorkommen von Doppelmißbildungen schon festgestellt ist.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig,
o. Professor der Anatomie an der Universität
Jena.

und

Dr. Richard Hertwig,
o. Professor der Zoologie an der Universität
München.

Heft 5.

Über den

Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies

unter dem Einfluſs äuſserer Agentien.

Mit 7 lithographischen Tafeln.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1887.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Experimentelle Studien

am tierischen Ei

vor, während und nach der Befruchtung.

Erster Teil.

Von

Oscar Hertwig,

o. Professor der Anatomie an der Universität Berlin.

Mit 3 lithographischen Tafeln.



Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1890.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Dr. Oscar Hertwig,

o. ö. Professor der Anatomie und vergleichenden Anatomie und Direktor des II. anatomischen Instituts für Entwickelungsgeschichte an der Universität Berlin.

Lehrbuch der Entwickelungsgeschichte des Menschen und der Wirbeltiere.

Zweite vermehrte und verbesserte Auflage.

Mit 304 Abbildungen im Texte und zwei lithogr. Tafeln.

Preis: broch. 11 Mark, Callico gebunden 12 Mark, Halbfranz gebunden 12 Mark 75 Pf.

Oscar und Richard Hertwig,

o. ö. Professoren an den Universitäten Berlin und München.

Untersuchungen zur Morphologie und Physiologie der Zelle.

Heft 1.

Die Kernteilung bei Actinosphaerium Eichhorni.

(Von R. Hertwig.)

Mit 2 lithographischen Tafeln. — 1884. — Preis: 2 Mark.

Welchen Ein[...] r Zellen?

Mit 1[...]

Das Probl[...] s Eies,

Experim[...] g der

Über den [...] rischen

Ei[...]

Mi[...]

Pro[...]

Stu[...] e.

Die Actinie[...] Berück-

ihre A[...] hte.

Heft 3.

Über den Bau der Ctenophoren.

Von Dr. R. Hertwig.

Mit 7 Tafeln. — Preis: 6 Mark.

Heft 4.

Die Coelomtheorie, Versuch einer Erklärung des mittleren Keimblattes.

Von Dr. O. Hertwig und Dr. R. Hertwig.

Mit 3 Tafeln. — Preis: 4 Mark 50 Pf.

Heft 5.

Die Entwickelung des mittleren Keimblattes der Wirbeltiere.

[...] Dr. Oscar Hertwig.

[...] afeln — Preis: 8 Mark.

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig, und **Dr. Richard Hertwig,**
o. Professor der Anatomie an der Universität Berlin, o. Professor der Zoologie an der Universität München.

Heft 6.

Experimentelle Studien am tierischen Ei

vor, während und nach der Befruchtung.

Erster Teil.

Von

Dr. Oscar Hertwig,
o. Professor der Anatomie an der Universität Berlin.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1890.

Experimentelle Studien
am tierischen Ei
vor, während und nach der Befruchtung.

Erster Teil.

Von

Oscar Hertwig,

o. Professor der Anatomie an der Universität Berlin.

Mit 3 lithographischen Tafeln.



Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1890.

Den experimentellen Untersuchungen, welche wir vor zwei Jahren „über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien“ veröffentlicht haben [1]), lassen wir hier einen weiteren Beitrag folgen. Zahlreiche Fragen nach der Art der Kräfte, welche in der Ei- und Samenzelle wirksam sind, konnten damals nur aufgeworfen, aber aus Mangel an geeignetem Beobachtungsmaterial und bei der Kürze der für die zahlreichen Experimente verfügbaren Zeit nicht beantwortet werden. An dieselben wieder anzuknüpfen und so dem großen Problem der Zeugung von möglichst vielen Seiten näher zu treten, schien uns nach wie vor eine dankbare Aufgabe zu sein.

Für die in Aussicht genommenen Untersuchungszwecke glaubten wir einen besonders geeigneten Ort in Triest zu finden. Nach den von Dr. Graeffe [2]) veröffentlichten Berichten kommen zahlreiche Arten von Seeigeln und Seesternen in geschlechtsreifem Zustand während der Monate März und April in Triest vor.

In der That war es auch leicht, fast täglich frisches Material von Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus, und häufig auch von Sphaerechinus granularis, Asterias glacialis und Astropecten zu erhalten. Die Materialbeschaffung wurde uns dadurch sehr erleichtert, daß wir Gelegenheit hatten, an der zoo-

1) Oscar Hertwig und Richard Hertwig, Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jena 1887.

2) Ed. Graeffe, Übersicht der Seetierfauna des Golfes von Triest nebst Notizen über Vorkommen, Lebensweise, Erscheinungs- und Fortpflanzungszeit der einzelnen Arten. Arbeiten aus dem zoologischen Institut der Universität Wien und der zoologischen Station in Triest, Bd. III, 1880.

logischen Station zu Triest zu arbeiten. Durch das freundliche Entgegenkommen des Direktors derselben, des Herrn Professor Claus, war uns ein Zimmer für unsere Untersuchungen zur Verfügung gestellt worden. Wir verfehlen nicht, hierfür unsern besten Dank abzustatten.

Wenn so die Wahl des Ortes gut getroffen war, griff leider ein gar nicht vorauszusehender Übelstand in den Gang der Untersuchungen störend ein. Es waren dies die überaus ungünstigen Witterungsverhältnisse des Frühjahres 1887. Während der Monat Februar warm gewesen war, trat gegen Mitte März plötzlich noch ein für die dortige Gegend strenger Nachwinter mit hohem Schneefall ein und hatte zur Folge, daß selbst noch im April die durchschnittliche Tagestemperatur eine ziemlich niedrige blieb. Für uns erwuchs hieraus ein doppelter Nachteil.

Der kleinere Nachteil war der Verlust einer vollen Arbeitswoche. Von dem Witterungsumschlag, der von einem heftigen Schneesturm begleitet war, wurden wir auf der Eisenbahnfahrt von München nach Triest mitten im Gebirge überrascht. Da alle Bahnlinien nach Triest, sowohl die Route über den Karst als die Pontebbabahn über Udine und Görz, durch hohen Schnee bei heftiger Bora unfahrbar geworden waren, wurden wir 5 Tage in Laibach aufgehalten.

Größer war der zweite Nachteil, daß das in Aussicht genommenene Arbeitsmaterial offenbar infolge der abnormen Witterungsverhältnisse geschädigt war. Bei vielen frisch eingefangenen Tieren, am häufigsten bei Echinus microtuberculatus, ließen sich die reifen Eier zum großen Teil nicht in normaler Weise befruchten; bei vielen trat Überfruchtung und monströse Entwickelung ein, die zum baldigen Zerfall führte. Mit solchem krankhaften Material war es selbstverständlicher Weise nicht möglich, Experimente auszuführen. Wir mußten uns in der Weise helfen, daß wir unter vielen Individuen nach solchen suchten, deren Eimaterial durchweg eine normale Entwickelung zeigte. Zu dem Zwecke mußten jedesmal vor Veranstaltung eines Versuchs Vorversuche gemacht werden, was einen nicht unerheblichen Zeitverlust herbeiführte. Hierfür wurden wir allerdings in gewissem Sinne entschädigt dadurch, daß wir die vielleicht seltene Gelegenheit erhielten, ein Experiment zu beobachten, welches die Natur selbst im großen Maßstabe ausgeführt hatte.

Abgesehen von der krankhaften Veränderung der Geschlechtsprodukte, entsprach das gesuchte Arbeitsmaterial auch noch in

einer anderen Hinsicht, und zwar wohl ebenfalls infolge der ungünstigen Witterungsverhältnisse, nicht unseren Wünschen. Manche Arten, deren Geschlechtsprodukte nach den Angaben von Graeffe in den Monaten März und April gereift sein sollten, enthielten noch gegen Ende April unreife Eier und Samenfäden, so Asteracanthion und Astropecten. Daher mußten denn Versuche, die an den Geschlechtsprodukten der Seesterne geplant waren und die uns nach Triest zu gehen in erster Linie bestimmt hatten, ganz unterbleiben.

Da wir in Triest in vieler Hinsicht unsere Arbeitszwecke nicht hatten zur Ausführung bringen können, benutzte einer von uns (Richard Hertwig) die Osterferien 1888 zu einem erneuten Aufenthalt in Spezia. Dieser zweite Aufenthalt hatte ebenfalls mit vielen Widerwärtigkeiten zu kämpfen. Ganz außergewöhnlich heftige Regengüsse hatten wochenlang das Hafenbassin von Spezia verunreinigt und dauerten zum Teil auch während des Aufenthaltes noch fort. Abermals hatten die Geschlechtspropukte der Seeigel häufig gelitten, so daß es nötig war, bei jedem Experiment eine Vorprüfung vorzunehmen, ob die Eier normaler Entwickelung fähig seien. Von Asteracanthion waren nur wenige Exemplare zu erhalten und diese waren sämtlich Männchen, welche der Hauptsache nach abgelaicht und nur noch wenig Samen in ihren Genitalorganen aufbewahrt hatten. Offenbar war das Laichgeschäft schon seit längerer Zeit beendet, und die weiblichen Tiere hatten sich in größere Tiefen zurückgezogen.

Trotz dieser verschiedenen Hindernisse und erschwerenden Umstände haben die in Triest und Spezia vorgenommenen Untersuchungen zu mehrfachen Ergebnissen, zu zahlreichen neuen Beobachtungen und zu neuen Fragestellungen geführt. Da die Beobachtungen sehr verschiedener Art sind, sollen sie in 8 Kapiteln mit folgenden Überschriften zur Besprechung kommen:

1) Überreife der Eier und Erscheinungen, die hierdurch veranlaßt werden.

2) Verhalten der Geschlechtsprodukte gegen Kälte.

3) Färbung der lebenden Zellsubstanz durch Methylenblau.

4) Parthenogenese bei Seesternen.

5) Bastardierungsversuche.

6) Befruchtung von abgesprengten Eistücken und von Furchungskugeln.

7) Entwickelung unbefruchteter Eier unter dem Einfluß von Reagentien.

8) Bedingungen der monospermen Befruchtung.

Die Untersuchung wurde teils an dem lebenden, teils auch an konserviertem Material nach unserer Rückkehr ausgeführt. Hierbei hat der eine von uns die Bearbeitung des den 4 ersten Kapiteln zu Grunde liegenden Materials, der andere die Bearbeitung des übrigen und des noch durch den Aufenthalt in Spezia gewonnenen Materials übernommen.

Erster Teil.

Erstes Kapitel.

Überreife der Eier und Erscheinungen, die hierdurch veranlafst werden.

Während der ganzen Zeit unseres Aufenthaltes in Triest, namentlich aber in der ersten Hälfte des Aprils erhielten wir zahlreiche Tiere von Echinus microtuberculatus mit mehr oder minder krankem Eimaterial. Dieselben stammten von verschiedenen Gegenden her. Meist wurden sie von den Chiosoten, Fischern, welche in Triest mit dem Tiefnetz fischen, in weiter Entfernung von der Küste und in größerer Meerestiefe gefangen; andere Male waren sie im Triester Hafen oder außerhalb desselben an der Küste, 1 Stunde von der zoologischen Station, und zwar dann von uns selbst gesammelt worden.

Bei der Eröffnung zeigten die meisten weiblichen Tiere auffallend prall gefüllte Eierstöcke. Dies war gewöhnlich schon ein Anzeichen, daß das Material nicht brauchbar sein würde. Wir ließen die geöffneten Tiere, indem wir sie in Schälchen mit frischem Meerwasser setzten, einen kleinen Teil ihrer Eier von selbst entleeren. Meist pflegen die Eier bald nach Eröffnung der Schale aus den Mündungen der Eileiter hervorzuquellen, wohl infolge von Zusammenziehungen, die am Eierstock eintreten. Die so ausgestoßenen Eier sahen bei oberflächlicher mikroskopischer Untersuchung reif und normal aus. Sie waren vollkommen durchsichtig und besaßen einen in der Mitte des Dotters gelegenen Eikern. Genauer untersucht, zeigten sie indessen an ihrer Oberfläche einen oder zwei kleine Hügelchen, die aus der homogenen Rindensubstanz des Eies bestanden und uns zu anderen Zeiten bei Echino-

dermeneiern noch niemals aufgefallen waren. Wenn zwei vorhanden waren, schienen sie uns stets einander gegenüberzuliegen. Über ihre Entstehung haben wir keine Beobachtungen gemacht, aus ihrer Anwesenheit aber konnten wir mit Sicherheit schließen, daß hier eine normale Befruchtung und Entwickelung nicht mehr möglich war.

Wenn Samen der eigenen Art, den wir stets gesund und beweglich fanden, zu den aus den vollen Eierstöcken entleerten Eiern zugefügt wurde, so schien der Erfolg der Befruchtung in einzelnen, gleichsam das Extrem darstellenden Fällen überall auszubleiben. Bei keinem Ei bildete sich weder ein Empfängnishügel, noch hob sich eine Dotterhaut von seiner Oberfläche ab, was immer das auffälligste und am leichtesten nach einigen Minuten zu bemerkende Zeichen eingetretener Befruchtung ist; auch Strahlenbildung war im Dotter in der ersten Zeit nach dem Zusatz des Samens nicht zu sehen. Später trat sie in größerer Anzahl auf. Die Entwickelung wurde eine sehr gestörte, nirgends eine Zweiteilung; nach 4—5 Stunden begannen einzelne Eier sich in größere und kleinere kugelige Stücke in unregelmäßiger Weise zu zerklüften.

Von diesem höchsten Grade der Schädigung führten Abstufungen zu Tieren mit gesundem Eimaterial herüber. Als Mittelstufe können wir hierbei einen Zustand bezeichnen, bei welchem von den Eiern sich zwar die Eihaut nach dem Samenzusatz rascher oder langsamer abhob, anstatt eines Samenfadens aber zwei oder mehrere in den Dotter gleichzeitig eindrangen und Unregelmäßigkeiten der Weiterentwickelung hervorriefen. Bei der Durchmusterung und Prüfung eines zahlreichen Materiales fiel es uns bald auf, daß wir auf gesunde Beschaffenheit der Eier gewöhnlich bei solchen Tieren rechnen konnten, deren Eierstöcke schlaff und schwach gefüllt waren. Wir nehmen an, daß hier die früher vorhandenen, aber infolge ungünstiger Verhältnisse degenerierten Eier schon vor dem Einfangen entleert worden waren, und daß ein neuer Satz von Eiern zu reifen angefangen hatte. Mit dieser Annahme stimmt überein, daß einige Wochen später die Seeigel mit prallen, aber krankhaften Eierstöcken allmählich seltener und durch Tiere mit gesundem Eimaterial ersetzt wurden.

Ähnliche Verhältnisse zeigte Strongylocentrotus lividus. Obwohl in den letzten Tagen des März frisch eingefangene Exemplare die Eierstöcke strotzend gefüllt hatten, blieb eine normale

Befruchtung, Abhebung der Eihaut, Strahlung, Zweiteilung in der Regel aus. Von Mitte April an trat hier eine Besserung ein. Wir erhielten Tiere, deren Eierstöcke zum Teil noch klein und in der Reife begriffen, zum Teil schon prall mit gesunden, entwickelungsfähigen Eiern gefüllt waren.

Um in die Veränderungen einen Einblick zu gewinnen, welche sich nach dem Samenzusatz im Inneren des Dotters abspielen, wurden Eier von Echinus microtuberculatus, welche stark geschädigt waren und die oben erwähnte Hügelbildung zeigten, nach der Befruchtung in vier verschiedenen Intervallen abgetötet und nach der Rückkehr nachträglich in der schon früher beschriebenen Weise zu genauerer Untersuchung benutzt.

Ein Teil wurde 12 Minuten nach der Befruchtung mit Pikrinessigsäure konserviert. Obwohl sich nirgends eine Eihaut gebildet und abgehoben hatte, waren trotzdem Samenfäden in den Dotter eingedrungen. Da nach der Färbung mit Boraxkarmin und Aufhellung in Kanadabalsam die stark tingierten Köpfe der Samenfäden sehr deutlich hervortraten, bereitete die genaue Feststellung ihrer Anzahl keine Schwierigkeit. Um ein ungefähres Mittel zu erhalten, wurde bei 10 Eiern, die im Balsampräparat zusammenlagen, die Zahl der eingedrungenen Spermatozoen bestimmt.

4 Eier zeigten 1 Samenkern,
2 „ „ 2 Samenkerne,
3 „ „ 3 „
1 Ei war unbefruchtet.

In 10 Eier waren also im ganzen 17 Samenfäden eingedrungen, so daß im Mittel auf 1 Ei noch nicht 2 Samenkerne kamen. Diese besaßen noch genau die Form des Kopfes des Samenfadens, lagen ganz oberflächlich in der Dotterrinde, während sonst schon die Anlagerung an den Eikern nach Ablauf von 12 Minuten eintritt; in ihrer Umgebung war entweder gar keine oder nur eine sehr geringfügige Strahlenbildung erfolgt. Keine Spur eines Empfängnishügels war wahrzunehmen. Das Eiplasma reagierte also nicht mehr in der bekannten Weise auf den vom Samenfaden ausgeübten Reiz.

Eine zweite Portion der Eier wurde eine halbe Stunde nach vorgenommener Befruchtung abgetötet. Wie ein Studium der Kanadabalsampräparate ergab, waren die Köpfe der Samenfäden zum Teil tiefer in den Dotter eingedrungen und mehr oder minder in kleinere oder größere Kernbläschen umgewandelt. Alle Stadien dieses Prozesses lassen sich bei Durchmusterung einiger Präpa-

rate leicht erkennen. Der Kopf des Samenfadens schwillt zunächst an, indem er aus dem Dotter flüssigere Substanz in sich aufnimmt (Taf. I, Fig. 1 und 2). Das Nuclein sondert sich hierauf von dem Kernsaft ab, indem es sich zu Fäden und Körnern anordnet. So entstehen kleine Bläschen, in denen das Nuclein entweder in der Mitte als eine höckerige Masse angesammelt oder mehr gleichmäßig in feinen Fäden im Kernraum ausgebreitet ist. Die größeren Bläschen erreichen den halben Durchmesser des Eikerns. Ihre Anzahl ist jetzt eine erheblich größere als auf dem vorangegangenen Stadium, so daß nachträglich ein Eindringen weiterer Samenfäden stattgefunden haben muß. Auch spricht hierfür deutlich der Umstand, daß, während die Kernbläschen tiefer im Dotter liegen, sich auch in der Rinde vereinzelte Samenkerne nachweisen lassen, welche noch ganz die Beschaffenheit der Köpfe der Samenfäden besitzen. Meist liegt der Eikern noch isoliert im Dotter. In andern Fällen hat sich ihm ein einziges Samenbläschen (Fig. 2) oder eine geringe Anzahl von solchen angelagert, umgeben von einer wenig ausgeprägten protoplasmatischen Strahlenfigur.

Eine an 10 Eiern wie oben vorgenommene Zählung der Samenkerne lieferte folgende Ergebnisse:

Ei	1	enthält	12	von Samenfäden abstammende Kerngebilde (teils Samenfädenköpfe, teils Bläschen),
„	2	„	3	Samenkerne,
„	3	„	4	„
„	4	„	1	Samenkern, der sich dem Eikern angelegt hat,
„	5	„	4	Samenkerne,
„	6	„	5	„ (2 davon Bläschen),
„	7	„	10	„
„	8	„	16	„
„	9	„	4	„
„	10	„	13	„
10 Eier		enthalten	72	Samenkerne.

Während 12 Minuten nach der Befruchtung im Mittel 2 Samenfäden in ein Ei eingedrungen sind, kommen jetzt im Durchschnitt 7 auf ein Ei.

Eine noch weitere Vermehrung ist bei Eiern zu konstatieren, welche 1 Stunde 40 Minuten nach dem Zusatz der Samenflüssigkeit mit Pikrinessigsäure übergossen wurden. Wie aus der später mitgeteilten Zusammenstellung zu ersehen ist, ist jetzt die Durchschnittszahl der Samenkerne für e i n Ei auf 9 gestiegen. Die am frühzeitigsten eingedrungenen haben weitere Umwandlungen er-

fahren (Fig. 5 und Fig. 6). Sie stellen jetzt Blasen vor, zum Teil von der Größe des Eikerns, und haben ein dichtes Netzwerk feiner Fäden entwickelt; oft liegen sie in kleineren oder größeren Gruppen zusammen. Dann läßt sich zuweilen beobachten, wie mehrere zu einer größeren, unregelmäßigen, mit Höckern besetzten Blase, die wieder ein feines dichtes Fadenwerk zeigt, untereinander verschmolzen sind (Fig. 5 b).

Auch hier finden sich namentlich in den stark überfruchteten Eiern Übergangsstufen (Fig. 3) zu kleineren Kernbläschen mit einem gröberen und stärker färbbaren Gerüst von chromatischer Substanz (b u. a) und von diesen wieder Übergänge zu frisch eingedrungenen und daher oberflächlich gelegenen noch kompakten kleinen Samenkernen. In manchen Eiern sind die isoliert gelegenen bläschenförmigen Kerne etwas oval geworden und an den Polen von zwei Plasmastrahlungen umgeben (Fig. 4).

Der Eikern ist häufig noch unbefruchtet. In anderen Fällen ist er mit einem oder mit zwei Samenkernen in Verbindung getreten. So zeigt uns Fig. 3 c einen Eikern, mit einem nicht gefärbten Gerüst, welcher sich an einer Seite in einen kleinen Höcker mit gefärbtem Netzwerk fortsetzt. Der Höcker ist seiner ganzen Beschaffenheit nach ein bläschenförmiger Samenkern, der mit dem Eikern zum Teil verschmolzen ist, insofern eine Abgrenzung zwischen beiden aufgehört hat. Daneben erblickt man einen zweiten bläschenförmigen Samenkern, welcher zwar dicht angelagert, aber noch überall durch eine Membran abgegrenzt ist.

Ich lasse noch eine Zusammenstellung der an 10 Eiern erhaltenen Befunde folgen:

Ei 1 enthält 2 Samenkerne, von denen einer mit dem Eikern verschmolzen ist, der andere ihm dicht anliegt.

„ 2 „ einen noch isolierten Eikern, 20 bläschenförmige Samenkerne, teils einzeln, teils in Haufen zusammenliegend, endlich 2 frisch eingedrungene Samenkerne.

„ 3 „ einen noch isolierten Eikern, 5 bläschenförmige und 17 später eingedrungene, kleinere, teils noch kompakte Samenkerne.

„ 4 „ einen Eikern mit 4 anliegenden blasenförmigen Samenkernen und Protoplasmastrahlungen.

„ 5 „ eine einzige Kernspindel (normale Befruchtung).

„ 6 „ einen Eikern mit anliegendem Samenkern.

Ei 7 enthält einen Eikern, mit welchem 1 Samenkern verschmolzen ist, und welchem ein zweiter dicht anliegt.

„ 8 „ einen Eikern und 9 in der Nähe gelegene blasenförmige Samenkerne.

„ 9 „ einen Eikern, mit welchem 2 Samenkerne verschmolzen sind.

„ 10 „ einen Eikern mit 18 blasenförmigen Samenkernen, die zum Teil in seiner Nähe, zum Teil gruppenweise zusammenliegen.

In 10 Eier sind somit im ganzen 86 Samenfäden oder durchschnittlich in jedes Ei ihrer 9 eingedrungen.

Der Rest des Eimaterials wurde nach 4 Stunden 20 Minuten nach Vornahme der Befruchtung eingelegt. Er bot außerordentlich verschiedenartige Befunde dar. An Eiern, die wohl noch am meisten in normaler Weise reagierten, war der Eikern geschwunden. In der Rinde des Dotters fanden sich in ziemlich gleichmäßiger Verteilung zahlreiche Kernspindeln, deren Zahl sich in einem Fall auf 7, in einem anderen Fall auf 8 belief (Fig. 7). Nach dem ganzen Verlauf der Erscheinungen ist wohl keine andere Deutung zulässig, als daß von den Spindeln e i n e aus dem befruchteten Eikern, die anderen aus den isoliert gebliebenen Samenkernen entstanden sind. Im weiteren Verlauf müssen sich die Spindeln in der gewöhnlichen Weise zu teilen fortfahren, denn man begegnet Eiern, an deren Oberfläche sich wie bei dem Typus der superficialen Furchung zahlreiche bläschenförmige Kerne vorfinden, und andere, an denen sich das Protoplasma um diese Kerne zu Ballen abzuschnüren beginnt (Fig. 8).

Eine zweite Kategorie von Eiern birgt mehr oder minder zahlreiche große Kernblasen, unter denen man manche wegen ihrer ganz besonderen Größe als Riesenkerne bezeichnen könnte (Fig. 9). Durch Verschmelzung vieler bläschenförmiger Samenkerne entstanden, erreichen sie die Größe eines Keimbläschens (Fig. 10). Im Inneren werden sie von einem feinen Fadenwerk durchsetzt, in dessen Maschen mehrere Nucleolen eingeschlossen sind.

Zuweilen sind mehrere Blasen, wie in der Figur 9, zu Reihen aneinander gelagert und an ihrer Oberfläche hie und da von protoplamatischen Strahlenfiguren umgeben.

Von diesen Formen ist endlich eine dritte Gruppe von Eiern abzuleiten, die sehr komplizierte Kernteilungsfiguren darbieten. Hier erblickt man im Dotter einen oder mehrere kugelige oder

langgestreckte Haufen von außerordentlich zahlreichen, nahe zusammengelegenen, kurzen, gebogenen Chromatinfäden (Fig. 11 und 12). Bei ihrer großen Zahl ist eine gesetzmäßige Anordnung nicht herauszufinden; sie scheinen mehr ein wirres Durcheinander zu bilden. An der Oberfläche des Haufens sind im Protoplasma zahlreiche kleine Strahlungsfiguren wahrzunehmen. Ihre Entstehung stelle ich mir in der Weise vor, daß sich in den Kernhaufen die Membran aufgelöst hat und daß die färbbaren Substanzen in die Form der kleinen Fäden übergegangen sind. Die Übereinstimmung derselben in Form und Größe untereinander und mit den Fäden, wie sie bei regulärer Kernteilung entstehen, ist eine bemerkenswerte Erscheinung.

Was aus diesen komplizierten Kernfiguren weiter wird, konnte an dem eingelegten Material nicht verfolgt werden. Nach ähnlichen früher beobachteten Fällen zu urteilen, werden so viele kleine Kerne, als Strahlungen vorhanden sind, durch Sonderung und Verschmelzung der Chromatinfäden entstehen, und wird hierbei der Dotter durch Knospenfurchung sich in kleine Stücke zu teilen beginnen.

Komplizierte Kernteilungsfiguren, wie sie von mir auf den vorausgegangenen Seiten und bereits schon bei früherer Gelegenheit beschrieben worden sind, treten nicht nur in überfruchteten Eizellen, sondern auch in tierischen Geweben unter pathologischen Verhältnissen auf[1]).

---

1) Litteratur.

1. Martin, Zur Kenntnis der indirekten Teilung. Virchow's Arch., Bd. LXXXVI.
2. J. Denys, Quelques remarques sur la division des cellules géantes de la moelle des os d'après les travaux de Arnold Werner, Löwit et Cornil. Anatom. Anzeiger 1888.
3. Waldstein, Ein Fall von progressiver Anämie. Virch. Arch., Bd. XCI.
4. Cornil, Sur la multiplication des cellules de la moelle des os par division indirecte dans l' inflammation. Arch. de phys. norm. et path., 3me Série, T. III, 1887.
5. Derselbe, Sur le procédé de division indirecte des noyaux et des cellules épithéliales dans les tumeurs. Arch. de phys. norm. et pathol., T. VIII, 3me Série.
6. Arnold, Beobachtungen über Kerne und Kernteilungen in den Zellen des Knochenmarkes. Virch. Arch., Bd. XCIII.

So beobachteten Arnold, Martin, Waldstein, Cornil in krebsigen und anderen Geschwülsten Zellen, die anstatt der gewöhnlichen Spindel komplizierte Kernteilungsfiguren bargen, entweder einen Triaster oder einen Tetraster oder Polyaster; sie reden von ihnen als von vielfachen Mitosen mit verzweigter Aquatorialplatte oder von mehr- und vielstrahligen Kernplatten oder von Kernfiguren, die aus Kernplatten zusammengesetzt sind; sie erwähnen von ihnen, daß sich in den meisten Fällen die dazu gehörigen achromatischen Spindeln nicht erkennen ließen.

Denys bildet von den Riesenzellen des Knochenmarks Teilungsstadien ab, die den von mir beschriebenen Figuren außerordentlich ähnlich sind. Nach seiner Beschreibung schwindet die Membran der Riesenkerne, die färbbare Kernsubstanz ordnet sich in sehr zahlreichen V-förmigen Schleifen an, deren Zahl mehrere 100 betragen kann. Die Schleifen legen sich darauf in regelmäßiger Weise in Gruppen von 3—20 zusammen und scheinen sich auf diesem Stadium der Länge nach zu spalten. Die Chromatinschleifen weichen hierauf auseinander und erzeugen viele blasenförmige Kerne, deren Zahl der Anzahl der aus der Spaltung der Schleifen entstehenden Gruppen entspricht.

Namentlich aber zeigen die größte Übereinstimmung mit den hier und in einer früheren Arbeit abgebildeten Figuren die schönen Zeichnungen, welche Schottländer in einer sorgfältigen Untersuchung über Kern- und Zellteilungsvorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut geliefert hat. Man vergleiche die beiden aus Schottländer's Arbeit entnommenen Kopieen von einer En-

---

— Arnold, Weitere Beobachtungen über die Teilungsvorgänge an den Knochenmarkzellen und weißen Blutkörpern. Virch. Arch., Bd. CIII.

— Derselbe, Über Kernteilung und vielkernige Zellen. Virch. Arch., Bd. XCVIII.

7. Werner, Über Teilungsvorgänge in den Riesenzellen des Knochenmarkes. Virch. Arch., Bd. CVI.

8. Löwit, Über Neubildung und Zerfall weißer Blutkörperchen. Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wissensch. zu Wien, Bd. 92, 3. Abt.

9. Krauss, Beiträge zur Riesenzellenbildung in epithelialen Geweben. Virch. Arch., Bd. XCV, 1884.

10. J. Schottländer, Über Kern- und Zellteilungsvorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXXI, 1888.

dothelzelle mit einer dreistrahligen und einer andern Zelle mit einer sechsstrahligen Kernfigur (Taf. II, Fig. 19 u. 20).

Was ist die Ursache für die erwähnte vielstrahlige Kernteilungfigur in den Riesenzellen? Ist es vielleicht eine ähnliche wie in unserem Falle, daß viele Kerne sich zu einer Kernmasse verbunden haben und dann gewissermaßen wie die zusammengruppierten Samenkerne in Teilung eingetreten sind? Mir scheint diese Vermutung nicht von der Hand zu weisen zu sein, da Arnold, Krauss, Löwit der Ansicht sind, daß die Entstehung der Riesenzellen eine verschiedenartige sein kann, und daß manche Arten durch Verschmelzung von Zellen ihren Ursprung nehmen. Wenn aber dem so ist, dann möchten wohl auch manche Kernformen, die man als in Fragmentation befindlich beschrieben hat, durch Zusammenlegung und Verschmelzung vieler Einzelkerne mit größerem Rechte herzuleiten sein, in ähnlicher Weise, wie in der überreifen Eizelle die zu Gruppen verbundenen Samenkerne. Wenn dann solche zusammengesetzten Kerne sich zur Teilung anschicken, dann kommt es zu den komplizierten Formen mit den zahlreichen Kernplatten und zur plötzlichen Entstehung vieler Tochterkerne.

Noch will ich die Vermutung aussprechen, daß bei der Entstehung der einfacheren Triaster und Tetraster in pathologischen Neubildungen vielleicht chemische Reize auf den sich zur Teilung anschickenden Kern einwirken, in ähnlicher Weise, wie Chininlösungen den normal befruchteten Furchungskern veranlassen, eine Triaster- und Tetrasterform anzunehmen.

Für diese Ansicht sprechen auch die pathologischen Kernteilungen, welche Schottländer an der Hornhaut durch Ätzung mit Argentum nitricum hervorgerufen hat.

Die Erscheinung, daß mehrere Wochen hintereinander bei verschiedenen Echinodermenarten die eingefangenen Exemplare in überwiegender Zahl nur krankhaftes Eimaterial lieferten, ist gewiß sehr auffällig, so daß es sich schon verlohnt, nach den Ursachen, welche hier die Veranlassung gegeben haben, zu forschen.

Wenn die eingefangenen Tiere aus dem eigentlichen Hafenbassin stammen würden, so könnte man wohl daran denken, daß vielleicht durch eine Verunreinigung des Wassers die Schädigung bedingt wäre. Aber abgesehen davon, daß es schwer verständlich ist, wie so große, einer beständigen Erneuerung unterliegende

Wassermassen durch die Abflüsse der Stadt Triest in einem stärkeren, die Existenz der Seetiere gefährdenden Grade verunreinigt werden sollten, ist dieser Gedankengang schon deswegen von der Hand zu weisen, weil sowohl Strongylocentrotus als Echinus microtuberculatus teils am Strand außerhalb des Hafens, teils mit dem Schleppnetz auf hoher See eingefangen worden waren.

Es liegt daher wohl am nächsten, an die klimatischen Verhältnisse zu denken, an die niedrige Temperatur des Meerwassers, wie sie entweder zu dieser Zeit im nördlichen Teil der Adria gewöhnlich besteht oder durch das außergewöhnlich kalte Frühjahr veranlaßt worden war.

In welcher Weise können nun aber die Geschlechtsprodukte durch die niedere Temperatur des Wassers verdorben werden? Eine die Geschlechtsstoffe direkt treffende Schädigung ist unserer festen Überzeugung nach auszuschließen. Nach später mitzuteilenden Experimenten werden Echinodermeneier, solange sich die Temperaturgrade über dem Nullpunkt bewegen, regelrecht befruchtet und entwickeln sich, wenn auch in einem etwas verlangsamten Tempo. Selbst eine Temperatur von — 2° R. wird, sofern sie nur kurze Zeit einwirkt, vertragen. Solange sich die Geschlechtsprodukte im Muttertiere befinden, wird durch die geringe Temperatur des umgebenden Mediums, wie wir dies ja auch bei anderen Tieren, z. B. den im Frühjahr laichenden Süßwasserfischen, beobachten können, zwar ihre Reifung verlangsamt, nicht aber ihre Entwickelungsfähigkeit gestört. Bei einem kalten Winter und Frühjahr laichen Hechte und Frösche etwas später als nach einem milden Winter bei Eintritt wärmerer Frühjahrswitterung.

Trotzdem glauben wir die klimatischen Verhältnisse für die von uns beobachteten Erscheinungen verantwortlich machen zu müssen. Nur kommt die schädigende Wirkung in einer indirekten Weise zu Stande. Die kalte Witterung hat auf das Geschlechtsleben der Seeigel einen abnormen Einfluß ausgeübt.

So wenig nun auch im allgemeinen über das Geschlechtsleben bei niederen Tieren bekannt ist, so giebt es doch eine kleine Summe von Erfahrungen, die für unsere Frage nicht unwichtig sind.

In vielen Fällen läßt sich beobachten, daß bei Tieren, deren Eier in das Wasser entleert und dort erst befruchtet werden, die Eiablage nicht willkürlich stattfindet, sondern erst infolge eines geschlechtlichen Reizes, der durch die Anwesenheit geschlechtsreifer Männchen hervorgerufen wird.

Wenn man von Fröschen, die in Paarung begriffen sind, die

Männchen entfernt, laichen die Weibchen in der Regel nicht ab, sie behalten die Eier, auch wenn sie schon in die Eileiter getreten sind und diese prall angefüllt haben, trotzdem bei sich. Es ist dies ein Verfahren, welches ich oft angewendet habe, wenn ich im Frühjahr über einen längeren Zeitraum reife Froscheier zur Verfügung haben wollte, um mit ihnen Versuche auszuführen. Man wird dann aber stets finden, daß die nicht zur Ablage gelangenden Eier nach Verlauf einiger Wochen geschädigt werden, zuerst sich in abnormer Weise entwickeln, schließlich absterben und sich zersetzen. Die Weibchen selbst sterben meistens, wie Pflüger[1]) bemerkt, infolge des Nichtablaichens.

Gar nicht selten kommt das Nichtablaichen bei der Forelle vor, worüber Barfurth[2]) interessante Beobachtungen veröffentlicht hat. So laicht z. B. die Forelle in Gewässern mit schlammigem Untergrund überhaupt nicht ab, weil, wie Barfurth bemerkt, „auf solchem Boden die Eier verschlammt werden und aus Mangel an frischem, sauerstoffhaltigem Wasser zu Grunde gehen". Aber auch von der Bachforelle kommen in jeder Laichperiode einzelne Individuen nicht zur Ablage der Geschlechtsstoffe. Barfurth schließt, wie mir scheint, sehr richtig, daß es solche Exemplare sind, welche spät reif werden. Da sich die Laichzeit bei den Forellen vom Oktober bis Januar ausdehnt, können spät reif werdende Weibchen nicht mehr zum Ablaichen kommen, weil entweder die Jahreszeit, die Temperatur und die Beschaffenheit des Wassers zu ungünstig sind, oder weil ihnen die zum Ablaichen erforderlichen Genossen des anderen Geschlechts fehlten. In diesen Fällen sterben nun aber die Forellen nicht an den Folgen des Nichtablaichens, dagegen verderben sehr bald die nicht zur Ablage gelangten reifen Geschlechtsprodukte und zerfallen in eine fettige, körnige Masse, die in den nächsten Monaten allmählich wieder aufgesogen und dem Organismus nutzbar gemacht wird.

Ähnliche Verhältnisse scheinen bei wirbellosen Tieren wiederzukehren. Auch hier scheint die Entleerung der reifen Geschlechtsprodukte erst infolge eines geschlechtlichen Reizes hervorgerufen zu werden. Daher findet zur Laichzeit wohl allgemein ein Zusammenschaaren der getrennt geschlechtlichen Tiere statt.

---

1) Pflüger, Über die das Geschlecht bestimmenden Ursachen und die Geschlechtsverhältnisse der Frösche. Pflüger's Archiv, Bd. XXIX.

2) Barfurth, Biologische Untersuchungen über die Bachforelle. Archiv f. mikrosk. Anat. Bd. XXVII, 1886.

Daß bei der Eiablage ein Geschlechtsreiz wirkt, geht wohl aus folgenden Beobachtungen hervor: Wenn man in einem Gefäß mit Meerwasser eine größere Anzahl Seeigel zusammenhält, so werden alsbald die Weibchen ihre Eier auszustoßen beginnen, sowie ein Männchen Samen entleert, so daß das Wasser etwas getrübt wird; dagegen behalten sie die Geschlechtsstoffe bei sich, wenn sie in der Gefangenschaft isoliert gehalten werden.

In ähnlicher Weise berichtet Fol [1]) von Carmarina hastata, einer Meduse. Wenn in einem Seewasseraquarium sich eine größere Anzahl dieser Tiere in geschlechtsreifem Zustand befand, so brauchte nur ein Männchen seinen Samen auszuwerfen, um bald auch alle Weibchen zur Ablage ihrer Eier zu veranlassen.

Die hier eingeschalteten Betrachtungen können uns zur Lösung der oben aufgeworfenen Frage dienen. Bei den von uns untersuchten zwei Echinodermenarten war bei den meisten Individuen im März und April die Reife der Geschlechtsprodukte schon seit einiger Zeit, wahrscheinlich mehreren Wochen, eingetreten. Nach den Angaben von Graeffe sollen ja zu dieser Zeit Strongylocentrotus und Echinus microtuberculatus gewöhnlich laichen, und sollen im Auftrieb viele Echinodermenlarven zu finden sein. Durch den warmen Februar war vielleicht in diesem Jahr die Reife der Eier sogar noch etwas beschleunigt worden. Infolge des im März einsetzenden Nachwinters und der starken Abkühlung des Meerwassers wurde das Laichgeschäft gestört, und der Geschlechtstrieb, der sich in dem Zusammenschaaren der Individuen einer Art äußert, unterdrückt. Männchen und Weibchen behielten die reifen Geschlechtsprodukte über die Zeit bei sich; daher die auffallend prall gefüllten Eierstöcke vieler Exemplare von Echinus microtuberculatus.

Reife Geschlechtsprodukte haben aber, wenn es nicht zur Befruchtung kommt, nur eine beschränkte Lebensdauer und müssen schließlich verderben, wie oben bei Fröschen und Forellen nachnachgewiesen wurde. Ihr Absterben wird nicht plötzlich eintreten; Eier und Samenfäden werden zuerst geschwächt und krankhaft verändert werden, ehe das Leben in ihnen ganz erlischt. Es besteht also ein Stadium der abnehmenden Lebensenergie reifer Geschlechtsprodukte, für welches wir den Namen der Überreife einführen wollen.

1) Fol, Die erste Entwickelung des Geryonideneies. Jenaische Zeitschrift, Bd. VII.

In diesem Zustand befanden sich meiner Meinung nach infolge des durch klimatische Verhältnisse unterdrückten Laichgeschäftes sehr viele Exemplare der beiden Seeigelarten, die während der Monate März und April 1887 von uns in Triest untersucht wurden. Es sind also die nach Vornahme der Befruchtung im Innern des Eies sich abspielenden abnormen Erscheinungen, wie sie in den vorausgegangenen Blättern dargestellt wurden, durch Überreife des Eies bedingt worden.

Mit dieser Erklärung fällt auch Licht auf einzelne Besonderheiten der mitgeteilten Befunde. Sehr strotzend gefüllte Eierstöcke von Echinus microtuberculatus lieferten das ungünstigste Resultat, weil hier wahrscheinlich auf der Höhe der Geschlechtsreife die ungünstigen Bedingungen einsetzten, welche die Ablage verhinderten. Schwach gefüllte Eierstöcke erwiesen sich als besser, weil hier das reife Material wohl schon vor dem Umschlag der Witterung entleert war, und in der Folgezeit neue Eier nachgereift waren. Gutes Material endlich fand sich auch bei Tieren, bei denen überhaupt die Reife der Geschlechtsprodukte etwas später erfolgt war und daher eine Überreife sich noch nicht hatte geltend machen können.

Mit den beobachteten Erscheinungen harmoniert auch eine Mitteilung, welche uns der Inspektor der zoologischen Station in Triest, Herr Dr. Graeffe, gemacht hat, die Mitteilung nämlich, daß er in den Monaten März und April im pelagischen Auftrieb keine Echinodermenlarven gefunden hat, während sie in anderen Jahren zahlreich vorkommen.

Wenn der von mir entwickelte Gedankengang richtig ist, so würde ein Punkt noch eine genauere Prüfung wohl verdienen. Vorderhand muß es nämlich unentschieden bleiben, ob die Erscheinungen der Überreife bei den Seeigeln nur durch die besonderen Verhältnisse des Frühjahrs 1887 hervorgerufen worden sind, oder ob es sich hier um Erscheinungen handelt, die in den Übergangsmonaten in den nördlichen Teilen der Adria regelmäßig wiederkehren. Ich erinnere daran, daß man in südlicheren Teilen des Mittelmeeres, wie in Messina und Neapel, während des ganzen Winters und Frühjahrs den Stronyglocentrotus lividus und vielleicht auch den Echinus microtuberculatus geschlechtsreif findet. Wie Fol aus seinen Beobachtungen und den Mitteilungen der Fischer glaubt schließen zu müssen, laichen die Seeigel oftmals hintereinander in monatlichen Zwischenräumen, welche genügen würden,

damit an Stelle der entleerten Eier wieder junger Nachwuchs heranreift. In Triest beginnt die Laichzeit erst im März und April. Es wäre aber möglich, daß vielleicht schon im Januar und Februar Eizellen reifen, aber infolge der kalten Wassertemperatur nicht abgelegt werden, sondern wieder zerfallen und aufgesaugt werden, bis eine normale Thätigkeit der Geschlechtsdrüse mit der wärmeren Jahreszeit möglich wird.

In dieser oder jener Richtung wird sich vielleicht eine Erklärung für das auffallende Verhältnis finden lassen, daß dieselbe Tierart, welche weiter südlich im Mittelmeer den ganzen Winter über laicht, in Triest mit diesem Geschäft erst im März oder April beginnt. Eine nähere Untersuchung, welche sich ja ohne jede Schwierigkeit durchführen ließe, wäre gewiß von nicht geringem biologischen Interesse.

Ehe ich dieses Kapitel abschließe, will ich noch auf den Unterschied zwischen den weiblichen und männlichen Geschlechtsprodukten in Bezug auf die Überreife aufmerksam machen. Offenbar verharrt der reife Samen, auch wenn er nicht entleert wird, viel längere Zeit in einem brauchbaren Zustand, als es die Eier thun. Denn in Triest haben wir niemals unter den Seeigeln Männchen mit reifem Samen angetroffen, der seine Fähigkeit zu befruchten eingebüßt hätte. Es harmoniert dies vollständig mit der von uns durch viele Experimente festgestellten Thatsache, daß die Samenfäden gegen äußere Agentien chemischer Natur, gegen hohe und niedere Temperaturgrade, eine viel größere Widerstandskraft als die leicht veränderlichen reifen Eier besitzen. Eine Ausnahme bei den Echinodermen macht nur der Einfluß des Meerwassers. In letzterem erhalten sich unbefruchtete Eier längere Zeit lebenskräftig als die Samenfäden. Hiervon abgesehen, kann man sagen, daß das Ei unter veränderten Bedingungen eher Schaden leidet als der Samen.

Dies gilt auch für den Fall, daß die Samenfäden bei Tieren mit innerer Befruchtung infolge stattgehabter Kopulation in die weiblichen Geschlechtswege eingeführt worden sind. So behält nach den Angaben von Dzierzon, v. Siebold und Leuckart der Samen im Receptaculum seminis der Bienenkönigin, die überhaupt nur einmal begattet wird, mindestens drei Jahre lang die Fähigkeit zu befruchten. Bei Fledermäusen geschieht die Begattung schon im Herbst, der Samen bleibt den ganzen Winter durch in

der Gebärmutter lebend und befruchtet erst im Frühjahr die jetzt reifenden und aus dem Eierstock sich ablösenden Eier. Das Huhn kann noch bis zum 18. Tage nach Entfernung des Hahnes befruchtete Eier legen.

Zweites Kapitel.

Verhalten der Geschlechtsprodukte gegen Kälte.

In einer vorausgegangenen Abhandlung wurde in dem Kapitel, welches von der Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch thermische Veränderungen handelt, nur der Einfluß erhöhter Temperaturen auf die Eier geprüft, dagegen von Experimenten mit herabgesetzter Temperatur durch Kältemischungen Abstand genommen. Ich bin jetzt in der Lage, diese Lücke auszufüllen, was mir um so erwünschter ist, als die Kälteeinwirkung interessantere Ergebnisse als die Wärmeeinwirkung liefert. Denn die Kälte ist ein Mittel, welches sehr rasch die Lebensfunktionen des Protoplasmas aufhebt, ohne sie auf die Dauer zu schädigen, wie es die Wärme thut.

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß ich eine Kältemischung durch Vermengung von kleingeschlagenen Eisstückchen und Kochsalz bereitete. In dieselbe wurde ein größeres Gefäß mit Meerwasser gestellt, welches nach kurzer Zeit, wie ein eingetauchtes Thermometer zeigte, eine Temperatur von 2—3 ° C unter 0 annahm. Infolgedessen bildete sich auch allmählich an den Wandungen des Gefäßes eine fingerdicke Schicht von Eiskrystallen. In das so auf —2 bis —3 ° abgekühlte Gefäß wurden kleine mit Meerwasser gefüllte Reagensröhrchen gebracht, welche das zum Experiment gewählte Eimaterial enthielten und bei ihrer geringen Größe die Temperatur ihrer Umgebung rasch annahmen. Zuweilen begannen sich auch in ihnen Eiskrystalle abzusondern.

Drei verschiedene Versuchsreihen wurden angestellt. Erstens wurden die Eier vor der Befruchtung auf —3 ° C längere Zeit abgekühlt und dann befruchtet, zweitens fand die Abkühlung wenige Minuten nach der Besamung statt, drittens versuchte ich einzelne Stadien der zur ersten Teilung führenden inneren Prozesse durch die Kälte zu beeinflussen.

Erste Versuchsreihe.

Abkühlung der Eier vor der Befruchtung.

Frisch entleerte Eier von Strongylocentrotus lividus wurden auf 5 Röhrchen verteilt und in der oben angegebenen Weise in die Kältemischung von —2 bis —3 ° C gebracht. Die 5 Partieen wurden nach 15 Minuten, nach 30, nach 60, nach 105 und nach 120 Minuten in der Weise befruchtet, daß etwas besamtes Wasser zu jedem Röhrchen hinzugesetzt wurde.

Bei dem ersten Versuch sieht man bei der sofort vorgenommenen Untersuchung die Samenfäden in Bewegung. Die Eihaut wird in normaler Weise abgehoben. An jedem Ei bildet sich ein großer, deutlich wahrnehmbarer Empfängnishügel aus. Schon nach 10 Minuten wird an der Eintrittsstelle des Samenfadens eine schwache Strahlung erkennbar.

15 Minuten nach der Befruchtung wurde ein Teil des Materials, welches während dieser Zeit in die Kältemischung nicht wieder zurückgebracht worden war, zum Zweck genauerer Untersuchung abgetötet. Bei Durchmusterung der Kanadabalsampräparate läßt sich leicht feststellen, daß mit wenigen Ausnahmen, wo 2 oder 3 Samenfäden eingedrungen sind, die Eier nur einfach befruchtet sind. Eine Eihaut hat sich überall gebildet (Fig. 13) und auch vom Dotter etwas abgehoben. Der Empfängnishügel hat sich, trotzdem eine Viertelstunde nach Eintritt des Samenfadens verflossen ist, nicht zurückgebildet. Er zeichnet sich durch eine ganz auffallende Größe und Breite aus und ist einem in Entstehung begriffenen Richtungskörper außerordentlich ähnlich. Er schließt noch den Kopf des eingedrungenen Samenfadens ein, der seine Form nicht verändert hat und einer Spitzkugel gleicht, deren Spitze meist nach der Mitte des Dotters gerichtet ist. In den seltenen Fällen, in denen 2 oder 3 Empfängnishügel entstanden sind, ist in jedem der Kopf eines Samenfadens nachzuweisen.

Der zweite Teil der Eier wurde 30 Minuten in der Kältemischung von —3 ° C abgekühlt und dann befruchtet. Die eine Viertelstunde später vorgenommene Untersuchung lehrt, daß jetzt die Eihaut zwar noch ausgeschieden worden, aber von der Oberfläche des Dotters nur wenig abgehoben und anstatt glatt gespannt etwas gefaltet ist (Fig. 14). Dasselbe bestätigt sich auch an Eiern, die 25 Minuten nach der Befruchtung konserviert wurden. Diese sind zum Teil mehrfach befruchtet. Von 10 Eiern, die genau durchmustert wurden, enthielten 4 nur einen Samen-

kern, 4 andere dagegen 2, und 2 Eier endlich 3 Samenkerne. Die Gesamtzahl der in 10 Eier eingedrungenen Samenfäden betrug daher 18. Die Empfängnishügel sind außerordentlich groß, wie Richtungskörper (Fig. 14 und 15), und schließen, trotzdem 25 Minuten nach dem Samenzusatz verflossen sind, noch die Köpfe der eingedrungenen Samenfäden ein.

Die dritte Partie wurde nach einstündigem Aufenthalt in der Kältemischung befruchtet, noch 30 Minuten lang in derselben gelassen und zu drei Versuchen verwandt.

Beim ersten Versuch wurde ein Eiquantum direkt in Pikrinessigsäure eingelegt. Jetzt ist weder eine Eihaut, noch sind Empfängnishügel nachweisbar. Wegen dieses letzteren Umstandes, und da die eingedrungenen Samenfäden sehr oberflächlich in der Dotterrinde liegen, ist ihre Anzahl nicht leicht festzustellen. In manchen Eiern konnte 1 Samenkern, in anderen konnten 2, 3 oder zuweilen selbst 10 Samenkerne, welche noch vollständig die Form der Spermatozoenköpfe besaßen, gezählt werden. Bei den meisten Eiern jedoch ließ sich nicht entscheiden, ob überhaupt in ihrer Dotterrinde ein Samenkern vorhanden war. Ist in diesen Fällen eine Befruchtung noch nicht erfolgt, weil beide Geschlechtsprodukte durch die Kälte in einen lähmungsartigen Zustand versetzt worden waren? Mir scheint dies der Fall zu sein und aus folgender Erscheinung geschlossen werden zu können. Wenn man aus der Kältemischung die mit Samen vermischten Eier sofort auf einen Objektträger bringt und bei stärkerer Vergrößerung untersucht, sieht man nirgends die Dotterhaut abgehoben. Doch bildet sich dieselbe, wenn man einige Zeit wartet, noch nachträglich bei einem Teil der Eier. Diese waren wahrscheinlich, als sie auf den Objektträger gebracht wurden, noch unbefruchtet. Die Befruchtung trat hier erst mit der Erwärmung des Wassers und dann unter Abhebung der Dotterhaut ein. Die Reizbarkeit des Protoplasmas kehrt nämlich nach der Abkühlung sehr rasch wieder zurück, wie man hieraus und noch aus vielen anderen Versuchen ersehen wird. So entsteht auch an den Objektträgerpräparaten nach 10 Minuten eine deutliche Plasmastrahlung an Stellen, wo sich ein Samenkern befindet, und zwar sind ihrer mehrere in den meisten Eiern vorhanden, mag sich nun die Eihaut abgehoben haben oder nicht. Es ist also meistens Überfruchtung eingetreten.

Beim zweiten Versuch wurde das Röhrchen mit einem Rest der Eier, nachdem es aus der Kältemischung entfernt worden war, noch eine halbe Stunde im warmen Zimmer stehen gelassen,

damit sich das Wasser allmählich erwärme. Die Folge davon war, daß im Protoplasma an allen Stellen, wo Samenfäden eingedrungen waren, Strahlungen entstanden. Es war daher jetzt ein Leichtes, in allen Eiern Samenkerne nachzuweisen, unter denen häufig schon einer mit dem Eikern verschmolzen war. Die beim ersten Versuch unbefruchtet gebliebenen Eier waren hier also noch nachbefruchtet worden. Unter 10 Eiern enthielten

3 Eier 4 Samenfäden,
1 Ei 3 „
5 Eier 2 „
1 Ei 1 Samenfaden.

In 10 Eier waren mithin 26 Samenfäden eingedrungen, so daß durchschnittlich auf je ein Ei zwei und ein halber Samenfaden kommen.

Beim dritten Versuch wurden die Eier aus der Kältemischung in ein Uhrschälchen gebracht, und nachdem ihnen noch einmal frische Samenflüssigkeit zugesetzt worden war, wurden sie nach Ablauf einer Viertelstunde abgetötet. In diesem Falle ist eine sehr hochgradige Überfruchtung erzielt worden. Fast alle Eier enthielten zahlreiche Samenkerne, welche entweder in der Eirinde oder nahe an dem Eikern lagen. Manche Eier waren ganz durchsetzt von ihnen. So waren in 10 Eier, die genauer untersucht worden waren, im ganzen 108 Samenfäden eingedrungen:

1 Ei enthielt 30 Samenkerne,
1 „ „ 12 „
2 Eier enthielten 11 Samenkerne,
2 „ „ 9 „
2 „ „ 7 „
2 „ „ 6 „

Im Durchschnitt kommen auf 1 Ei 11 Samenkerne.

Ein Vergleich mit den 2 anderen Versuchen lehrt, daß infolge der Erwärmung und des Zusatzes frischer Samenfäden nicht nur die früher unbefruchtet gebliebenen Eier noch vielfach befruchtet worden, sondern auch in die schon befruchteten Eier abermals Samenfäden eingedrungen sind. Es ist dies möglich, weil infolge der längere Zeit angewandten Abkühlung die Membranbildung nach dem Samenzusatz unterdrückt worden war. Einer neuen Invasion war damit das Thor geöffnet.

Ferner lehrt der Versuch, daß für das Zustandekommen einer Überfruchtung die absolute Kältestarre nicht der günstigste Zeitpunkt ist. Günstiger ist vielmehr die der Kältestarre vor-

ausgehende Phase, wo noch ein geringer Grad von Erregbarkeit des Protoplasmas besteht. Am geeignetsten aber glaube ich den Zeitpunkt halten zu müssen, wo bei eintretender Erwärmung das Protoplasma aus der Kältestarre gleichsam zu erwachen und seine Erregbarkeit allmählich wieder zu erlangen beginnt.

Die vierte Partie Eier wurde *zwei* Stunden lang in der Kältemischung abgekühlt, darauf befruchtet, nach weiteren 20 Minuten aus der Kältemischung herausgenommen und in verschiedener Weise weiter untersucht. Erstens wurden die Eier sofort im lebenden Zustand bei starker Vergrößerung betrachtet. Es zeigte sich hierbei, daß die Samenfäden noch beweglich waren, daß sich nirgends weder eine Eihaut, noch Empfängnishügel noch Strahlungen gebildet hatten. Doch wurden letztere allmählich in größerer Anzahl, wenn auch nur wenig sichtbar, nachdem die Eier eine Viertelstunde auf dem Objektträger verweilt und sich in dieser Zeit etwas erwärmt hatten. In keinem Fall hat sich eine Dotterhaut abgehoben.

Zweitens war ein Teil der Eier in Pikrinessigsäure eingelegt worden. An diesen ließ sich die Anzahl der eingedrungenen Samenfäden, wenn auch nicht ganz genau, bestimmen. Denn da die Köpfe der letzteren ganz oberflächlich in der Dotterrinde eingeschlossen waren und ihre Form noch unverändert beibehalten hatten, konnten leicht einige übersehen werden, zumal auch die Empfängnishügel fehlten. Bei 10 Eiern, die genau durchmustert worden waren, wurden gefunden: 1 Samenkern in 3 Eiern,
2 Samenkerne in 3 Eiern,
4 „ „ 3 „
5 „ „ 1 Ei.

In 10 Eier waren also 26 Samenfäden eingedrungen.

Drittens wurde einer Anzahl Eier, nachdem sie aus der Kältemischung genommen worden waren, etwas besamtes Wasser zum zweiten Male hinzugefügt. Nach einer halben Stunde waren viele Strahlungen in ihnen deutlich zu sehen. Doch war auch hier die Bildung einer Eihaut und von Befruchtungshügeln unterblieben. An dem eingelegten Material ließ sich die Anzahl der eingedrungenen Samenkerne, die zu dieser Zeit schon bläschenförmig geworden waren, leicht bestimmen. Sie war wieder viel bedeutender als bei dem nur einmal befruchteten Material. Denn in 10 Eiern ließen sich 80 Samenkerne zählen:
in 1 Ei 12 Samenkerne,
„ 2 Eiern 11 Samenkerne,

in 1 Ei 9 Samenkerne,
„ 3 Eiern 8 Samenkerne,
„ 2 „ 6 „
„ 1 Ei 1 Samenkern.

Auf 1 Ei kommen also durchschnittlich 8 Samenkerne.

Fassen wir die Ergebnisse der mitgeteilten Versuchsreihen zusammen.

Die Eier der Seeigel können eine mehrstündige Abkühlung auf —2 bis —3° C. vertragen, eine Temperatur, bei welcher sich Eiskrystalle im Meerwasser auszuscheiden beginnen. Während der Abkühlung werden die Lebensfunktionen des Protoplasmas allmählich herabgesetzt, bis ein Zustand völliger Kältestarre eingetreten ist. Es giebt sich dies zu erkennen in einer Veränderung der verschiedenen Erscheinungen, von welchen der Befruchtungsvorgang normaler Weise begleitet wird, nämlich in der Entwickelung der Dotterhaut, der Empfängnishügel, der Zahl der eindringenden Samenfäden und der Strahlenbildung im Protoplasma.

Die Dotterhaut wird in der ersten Viertelstunde der Abkühlung bei dem Zusatz des Samens noch ausgeschieden und auch von der Oberfläche des Dotters gut abgehoben. Nach einer halben Stunde wird sie nur in unvollkommener Weise gebildet, sie legt sich in Falten, hebt sich nur wenig von der Oberfläche des Eies ab. Noch später unterbleibt ihre Ausscheidung ganz, auch das befruchtete Ei ist hüllenlos.

Die Empfängnishügel verändern sich ebenso unter dem Einfluß der zunehmenden Kältestarre. In der ersten halben Stunde erheben sie sich in abnormer Weise an der Eintrittsstelle des Samenfadens als weit vorragende Hügel, während sonst nur kleine fein zugespitzte Protoplasmakegel entstehen. Anstatt wie diese nach ihrer Entstehung rasch wieder eingezogen zu werden, ausgestreckten Pseudopodien gleich, bleiben sie unverändert noch längere Zeit an der Oberfläche des Eies hervorstehen, als befände sich das Protoplasma in einem lähmungsartigen Zustand. Mit Zunahme der Kältestarre werden die Empfängnishügel erst breiter und niedriger; darauf werden sie überhaupt nicht mehr gebildet, da das Protoplasma das Reaktionsvermögen gegen den Reiz des eindringenden Samenfadens verloren hat.

Von den verschiedenen Stadien der Kältestarre wird drittens die Anzahl der Samenfäden, welche sich in das Ei einzubohren vermögen, beeinflußt. Bei Beginn der Abkühlung erfolgt einfache Befruchtung, nach einer halben Stunde dringen schon in

viele Eier 2—4 Samenfäden ein. Dann kömmt ein Stadium (zweite Stunde der Abkühlung), auf dem infolge völliger Kältestarre die Eier unbefruchtet bleiben, da die Samenfäden sich offenbar schwerer in den Dotter, der nicht mehr reagiert, einzubohren vermögen. Auf einem Absterben beruht diese Erscheinung nicht; denn sowie die Eier auf dem Objektträger nur wenig erwärmt werden, tritt bei ihnen noch Mehrfachbefruchtung und sogar unter Abheben einer Dotterhaut ein.

Am raschesten von allen Reizerscheinungen wird die Strahlenbildung im Protoplasma beeinflußt. Denn sie erlischt schon auf den ersten Stadien der Abkühlung, stellt sich allerdings bei eintretender Erwärmung auch rasch wieder ein.

Zweite Versuchsreihe.

Abkühlung der Eier nach eben stattgefundener Besamung.

Um die Veränderungen zu verfolgen, welche die inneren Befruchtungsvorgänge infolge längere Zeit dauernder Abkühlung erleiden, wurde eine besondere Reihe von Versuchen angestellt. Eier von Strongylocentrotus wurden in normaler Weise befruchtet und 5 Minuten nach dem Zusatz des Samens während $1^1/_2$ Stunde in die Kältemischung gebracht. Aus dieser wurden sie herausgenommen, damit bei Zimmertemperatur das Wasser sich wieder langsam erwärmte, und schließlich in drei verschiedenen Intervallen, nach 10, nach 40 und nach mehr Minuten in Pikrinessigsäure eingelegt.

Nach 10 Minuten zeigen die Eier bei weit abgehobener Dotterhaut einen außergewöhnlich großen Empfängnishügel (Fig. 16), und noch in demselben oder nur wenig entfernt von ihm (Fig. 17) den Samenkern. Dieser hat daher während der ganzen Zeitdauer der Abkühlung $1^1/_2$ Stunde lang seinen Platz im Ei kaum verändert. Dagegen besitzt er die Form vom Kopf des Samenfadens nicht mehr, er hat sich etwas vergrößert, ist zu einem ovalen, gleichmäßig gefärbten Körper geworden und hat sich mit einem körnchenfreien Hof umgeben.

Nach 40 Minuten findet man an den Eiern noch den Empfängnishügel vor (Fig. 18), aber der Samenkern hat seinen Ort verändert. Entweder liegt er in großer Nähe des Eikerns, oder er sitzt dem Eikern als kleine Calotte (Fig. 19) dicht auf, oder er hat sich dem ersteren noch dichter angeschmiegt (Fig. 20) und stellt eine Scheibe dar, die sich nur durch ihre dunkle Färbung

in Boraxkarmin von der Substanz des Eikerns unterscheiden läßt. In der Umgebung des Samenkerns ist die Strahlung nur sehr wenig ausgeprägt.

In den noch später abgetöteten Eiern ist der Furchungskern schon in Vorbereitung zur Teilung: entweder ist er ziemlich erheblich vergrößert und etwas oval geworden und an 2 Polen mit deutlich ausgeprägten Strahlungen versehen, oder es hat sich schon eine Spindel mit einer Äquatorialplatte gebildet.

Einen Einblick in die Veränderungen, welche die Samenkerne infolge von Abkühlung erfahren, gewährten auch die Eier, welche zu den Versuchen im vorausgegangenen Abschnitt gedient hatten, wenn sie auf späteren Stadien untersucht wurden. So verliefen bei dem Material, welches zu dem ersten und zweiten Versuch gedient hatte, die inneren Befruchtungserscheinungen in normaler Weise, wenn auch sehr verlangsamt. Da die Kälteeinwirkung in dem einen Falle nur eine Viertel-, in dem anderen Falle eine halbe Stunde gedauert hatte, so war beim Zusatz des Samens einfache Befruchtung erfolgt. Die Eier verweilten darauf noch einige Zeit in der Kältemischung, wurden dann zum Teil eine halbe, zum Teil eine ganze Stunde im warmen Zimmer stehen gelassen. In beiden Fällen hatte sich der Samenkern dem Eikern genähert und saß meist als kleiner Höcker seiner Oberfläche auf, von Strahlung umgeben. Der Empfängnishügel bestand noch in unveränderter Weise an der Oberfläche des Dotters fort.

Beim dritten und vierten Versuche (Seite 20—22), in welchem die Kälte eine und zwei Stunden eingewirkt und mehr oder minder starke Überfruchtung hervorgerufen hatte, gehen allmählich die Samenkerne tiefergreifende Metamorphosen ein, wenn sich das Wasser wieder etwas erwärmt. Sie werden von einem undeutlich begrenzten hellen Hof umgeben, um welchen das Protoplasma ein strahliges Gefüge annimmt. Die chromatische Substanz vergrößert sich, verliert ihre glatte Oberfläche und streckt kleine Fortsätze anf der Oberfläche aus, wie ein amöboider Körper oder wie ein rotes Blutkörperchen in Stechapfelform (Fig. 21—23). Auf einem weiteren Stadium nimmt sie immer mehr eine lockere Beschaffenheit an und geht in gewundene Fäden über, die mit kurzen Seitenästchen und Höckern besetzt sind (Fig. 24, 25).

Endlich bilden die Samenkerne kleine, ziemlich gut konturierte Bläschen, in deren Flüssigkeitshöhle ein chromatisches Netzwerk entweder central angehäuft oder mehr gleichmäßig ausgebreitet ist (Fig. 26). Die am weitesten entwickelten Samenkerne

sind nicht mehr von einer einfachen, sondern einer doppelten Strahlung eingeschlossen und daher in Umwandlung zu einer kleinen Kernspindel begriffen (Fig. 27).

Dritte Versuchsreihe.

Abkühlung der Eier auf einzelnen Stadien der Kernteilung.

Da niedere Kältegrade ein vorzügliches Mittel sind, sofort alle Bewegungserscheinungen im Protoplasma zum Stillstand zu bringen, so habe ich es mit Erfolg auch bei den einzelnen Stadien des Kernteilungsprozesses angewandt und auf diese Weise die Kernteilungsfiguren abzuändern versucht. Es gelingt dies in nicht geringem Maße. Von Wichtigkeit ist dabei wieder die Zeitdauer, in welcher die Kälte einwirkt.

A) Einwirkung der Kälte auf kurze Zeit.

Eier von Strongylocentrotus wurden teils 40, teils 80, teils 105 Minuten nach Vornahme der Befruchtung während einer Viertelstunde in die Kältemischung gebracht. Die erste Folge davon ist, daß in kurzer Zeit alle Strahlenfiguren im Protoplasma unterdrückt werden. Man erkennt nur noch den Ort derselben, indem der Mittelpunkt der Strahlung als eine helle körnchenfreie Stelle im Protoplasma fortbestehen bleibt. Aber die charakteristische radiäre Anordnung der Dotterteilchen ist vollständig geschwunden.

Nach 40 Minuten traf ich in der Mehrzahl der Eier einen großen Furchungskern von einem hellen Hof oder Strahlung umgeben und konnte an ihm in der Regel noch eine Sonderung der vom Eikern und der vom Samenkern herrührenden Substanzen infolge einer verschiedenartigen Karminfärbung wahrnehmen (Taf. II, Fig. 1). Der Furchungskern zeigte erstens ein ungefärbtes Gerüst, welches auf den Eikern zurückzuführen ist und einen kleinen nucleolusartigen Körper einschließt, und zweitens in Karmin gefärbte Fäden, welche an einer Stelle seiner Oberfläche in einem Haufen zusammenliegen. Letztere stammen auf Grund von Befunden, welche schon früher bei andern Versuchen erhalten und beschrieben wurden, von der Substanz des eingedrungenen Samenfadens her. In einzelnen Eiern sind beide Geschlechtskerne noch nicht verschmolzen, aber dicht zusammengelagert (Fig. 2). In diesem Fall hat sich der Samenkern zu einem ziemlich ansehnlichen Bläschen vergrößert, in welchem die färbbare Substanz zu einem feinen Fadenwerk angeordnet ist.

Als die Eier 80 Minuten nach der Befruchtung in die Kälte-

mischung gebracht wurden, waren sie bald mehr, bald weniger weit in Umbildung zur Hantelfigur begriffen. Bei einem kleinen Teil der Eier ist der Furchungskern noch als ein deutlich konturiertes Bläschen erhalten (Fig. 3), durchsetzt von einem ungefärbten Fadenwerk, dem hie und da gefärbte Körnchen anliegen. Welcher Teil der Substanz vom Samenfaden abstammt, ist jetzt nicht mehr zu unterscheiden. Der Furchungskern ist an zwei Stellen etwas abgeplattet. Sie bezeichnen die Pole des Kerns, an welchen sich die Polstrahlungen wieder unter dem Einfluß der Kälte zurückgebildet und an ihrer Stelle zwei Anhäufungen homogenen Protoplasmas zurückgelassen haben. Den beiden etwas abgeplatteten Polseiten des Kerns liegt unmittelbar etwas feinkörnige Substanz an, die eine etwas dunklere Färbung als ihre Umgebung besitzt. Sie entspricht meiner Meinung nach der von van Beneden bei Nematodeneiern unterschiedenen Attraktionssphäre und dem in ihr eingeschlossenen Polkörperchen. Letzteres war bei der angewandten Konservierungs- und Färbungsmethode nicht als gesonderter Teil zu erkennen.

An den meisten Eiern ist der bläschenförmige Kern geschwunden und in Umbildung zur Spindel begriffen. Man sieht dann eine ziemlich veränderte Kernteilungsfigur (Fig. 4). Zwischen zwei Anhäufungen homogenen Protoplasmas, welche die Stelle der Polstrahlungen bezeichnen, lagern an dem Ort, den früher der blasenförmige Kern einnahm, einzelne unregelmäßig gewundene chromatische Kernfäden, eingebettet in ein feines Gerüst ungefärbter Substanz.

Das Material, welches 105 Minuten nach der Befruchtung abgekühlt wurde, zeigt uns die Eier teils auf der Höhe des Hantelstadiums, teils schon am Anfang der Zweiteilung. Hier sind die Kernfiguren ebenso in erheblicher Weise durch die Kälte modifiziert worden. Wie die drei nebeneinander stehenden Figuren lehren (Fig. 5, 6, 7), ist auch jetzt nicht die geringste Spur von Spindelfasern zu sehen. Sie haben sich ebenso wie das strahlige Gefüge des Protoplasmas an den Polen rückgebildet. Die Gegend der beiden Polstrahlungen ist durch Ansammlung von etwas körnchenfreiem Protoplasma bezeichnet. Zwischen denselben liegt die in Karmin dunkel gefärbte chromatische Substanz. Entweder besteht dieselbe noch aus e i n e m einfachen Streifen von mehreren Kernschleifen (Fig. 5), den Chromosomen Boveri's, oder, wenn die Teilung schon weitere Fortschritte gemacht hat, aus z w e i in geringem Abstand voneinander parallel gelagerten Streifen

(Fig. 6). In beiden Fällen haben die Chromosomen im ganzen ihre normale Form beibehalten. Fig. 7 rührt von einem Ei her, welches sich schon an seiner Oberfläche einzuschnüren beginnt; an Stelle der Chromosomen trifft man hier 2 Haufen kleiner Kernvakuolen, welche aus den ersteren durch Imbibition mit Kernsaft entstanden sind. Beachtung verdienen endlich noch die Ansammlungen homogenen Protoplasmas, welche den Hantelköpfen entsprechen. In der Mitte derselben befindet sich eine feinkörnige Substanz, die an Karminpräparaten durch eine wenig dunklere Färbung erkennbar wird. In der Mitte des Hantelstadiums bildet sie einen kugligen Ballen (Fig. 5), vor Eintritt der Furchung einen schmalen Streifen, welcher der Kernplatte parallel gerichtet ist (Fig. 6). In Figur 7 ist der Streifen auf dem optischen Durchschnitt gesehen. Die feinkörnige Substanz nimmt die Stelle der Attraktionssphären und der in diesen gelegenen Polkörperchen ein und fand schon bei Figur 3 Erwähnung.

Fassen wir die Veränderungen zusammen, welche bei kurzer Wirkung der Kälte an den Kernfiguren hervorgerufen werden, so betreffen dieselben hauptsächlich zwei Strukturen. Erstens bilden sich die Protoplasmastrahlungen an den beiden Polen des bläschenförmigen Kerns oder der Spindel zurück, und zweitens werden die Spindelfasern vollständig unkenntlich. Mit einem Wort, es wird der ganze achromatische Teil der Kernfigur vernichtet, während der chromatische aus Kernfäden (Chromosomen) bestehende Teil geringfügigere Veränderungen erleidet.

Über die Polkörperchen kann ich nichts mitteilen, da sie leider nicht zur Anschauung gebracht werden konnten.

Die Wirkung der Kältestarre war indessen in den eben beschriebenen Versuchen eine rasch vorübergehende. Denn wenn die Eier aus der Kältemischung in einen Tropfen Wasser auf den Objektträger gebracht wurden, so genügten schon 5—10 Minuten, damit die beiden Polstrahlungen (z. B. auf dem Hantelstadium) in der ursprünglichen Schärfe wiederkehrten. Bald kam es dann auch zur regelrechten Teilung und normalen Weiterentwickelung.

B) Länger fortgesetzte Einwirkung der Kälte.

Intensivere Veränderungen wurden an den Kernteilungsfiguren durch längere Einwirkung der Kälte hervorgerufen, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht.

Von Eiern, die sich auf dem Hantelstadium befanden, wurde

eine Partie $2^1/_4$ Stunde, eine andere Partie sogar $3^3/_4$ Stunde in einer Kältemischung auf — 2° C abgekühlt. Von jeder Partie wurden Eier, nachdem sie aus der Kältemischung herausgenommen worden waren, zu verschiedenen Zeiten teils im lebenden Zustand untersucht, teils nachdem sie in Pikrinessigsäure konserviert und mit Boraxkarmin gefärbt worden waren.

a) Eier, die $2^1/_4$ Stunde auf — 2° C abgekühlt worden waren.

Was die $2^1/_4$ Stunde abgekühlten Eier betrifft, so wurde ein Teil derselben, nachdem er aus der Kältemischung herausgenommen worden war, sofort in Pikrinessigsäure eingelegt. Die achromatische Figur ist in derselben Weise verändert, wie schon oben beschrieben wurde (Fig. 9). Strahlung und Spindelfäden sind geschwunden. In den zwei feinkörnigen, kugeligen Körpern, die von einer homogeneren Protoplasmahülle umschlossen werden, erkennt man die schon oben erwähnten beiden Attraktionssphären.

Die chromatische Figur ist im Vergleich zu den Eiern, die nur kurze Zeit in der Kältemischung gelassen worden waren, stark verändert (Fig. 9, Fig. 8 *a. d. e.*). Die einzelnen Chromosomen, die im normalen Zustand feine, kurze, meist hakenförmig umgekrümmte Fäden darstellen, sind verdickt und aufgequollen; dabei sind sie näher aneinandergerückt und häufig zusammen verschmolzen. Sie können dann einen verästelten, mit Höckern und Fortsätzen bedeckten Körper erzeugen, der sich einer mit vielen verzweigten Pseudopodien bedeckten Amöbe vergleichen läßt. In einzelnen Eiern, bei denen die Veränderung infolge der Kälte am weitesten vorgeschritten war, waren alle Chromosomen zu einem kompakten, mit einzelnen Höckern bedeckten Chromatinkörper gleichsam zusammengeflossen (Fig. 8 *b*, *c*).

Um zu sehen, was aus derartig umgeänderten Kernfiguren weiterhin wird, wurde ein zweiter Teil der Eier, nachdem er aus der Kältemischung genommen war, noch $^3/_4$ Stunde im warmen Zimmer stehen gelassen. In dieser Zeit sind die Eier trotz der hochgradigen Veränderung, die sich an ihnen feststellen ließ, aufs neue in den Teilungsprozeß eingetreten. Derselbe spielt sich bei einem Teil der Objekte auch jetzt noch in normaler Weise ab, indem bald nach dem Aufhören der Kältestarre die einzelnen Kernteile sich wieder zu der regelmäßigen Kernfigur, wie sie vor dem Experiment bestanden hatte, auf direktem Wege anordnen. Hier hat die Kälte gewissermaßen nur als Hemmung gewirkt. Der

Teilungsprozeß setzt einfach an dem Punkte wieder ein, an welchem er durch die Kälte zum Stillstand gebracht worden war. Um die beiden Attraktionssphären nimmt der Dotter wieder ein strahliges Gefüge an; zwischen den beiden Strahlungen treten wieder die Spindelfasern hervor; auf der Oberfläche derselben bilden sich aus der chromatischen Substanz die Chromosomen in typischer Anordnung. So geht Figur 9 auf direktem Wege wieder in Figur 10 über. Diese rührt von einem Ei her, welches $^3/_4$ Stunde nach Herausnahme aus der Kältemischung abgetötet und konserviert worden war. Andere Eier waren im normalen Teilungsprozeß sogar schon weiter fortgeschritten und begannen sich entweder einzuschnüren oder waren schon in zwei gleich große Teilstücke zerlegt.

In der Mehrzahl der Fälle ist indessen der weitere Verlauf des neu anhebenden Teilungsprozesses ein mehr oder minder gestörter und in verschiedener Weise modifizierter. Die längere Zeit fortgesetzte intensivere Abkühlung hat hier nicht nur hemmend, sondern dabei auch schädigend und tiefer abändernd auf die Funktion und Struktur von Protoplasma und Kern eingewirkt. Die Kernteile gehen erst nach einer Ruhepause, welche je nach dem Grad der Schädigung kürzer oder länger ausfällt, vom normalen Kernteilungsprozeß abweichende Neubildungen ein, um schließlich doch auf Umwegen wieder in einen Zustand zu geraten, welcher sie zur Teilung geeignet macht.

Zum Studium dieser Verhältnisse diente konserviertes Material. Dasselbe bot verschiedenartige Befunde dar, von denen einige in den Figuren 11—17 wiedergegeben sind.

In Figur 11 ist aus der chromatischen Substanz, die sich nach dem Aufhören der Kältestarre in dem in Figur 8 und 9 abgebildeten Zustand befand, ein Knäuel feiner gewundener Chromatinfäden hervorgegangen. Zu beiden Seiten desselben liegen zwei durch Spindelfasern verbundene Strahlungen. Von diesem Zustand ist der Übergang zur Kernfigur, wie sie durch die Kälteeinwirkung unterdrückt worden war, und zum normalen Weitergang der Teilung ein sehr einfacher. Denn es ist wohl nicht zu bezweifeln, daß die Figur 11, wenn sie sich weiter zu verändern fortfährt, in die Figur 10 übergehen wird. Damit dies geschieht, braucht sich ja nur aus dem Knäuel eine große Anzahl abgeteilter Chromatinschleifen zu bilden und in der charakteristischen Weise zwischen den beiden Polstrahlungen anzuordnen.

Eine größere Abweichung von der normalen Weiterentwick-

lung ergeben die Figuren 12, 13 und 14. Denn hier ist in der Eizelle an Stelle zweier Strahlungen nur eine einzige weit ausgedehnte Strahlung entstanden. In die Ursache zu dieser auffälligen Abänderung bedaure ich keinen Einblick gewonnen zu haben. Es würde dies wohl möglich gewesen sein, wenn ich die Polkörperchen durch geeignete Färbemethoden hätte wahrnehmbar machen und ihre Veränderungen unter dem Einfluß der Kältestarre verfolgen können. Die chromatische Substanz liegt an einer Stelle der Strahlenfigur oberflächlich an. In Figur 14 erscheint sie als ein lockeres Netz feiner Chromatinfäden. Auf einem weiteren Entwickelungsstadium befindet sie sich in den Figuren 12 und 13. Denn aus dem Fadenwerk sind hier wieder die charakteristischen feinen Chromatinschleifen entstanden und haben sich in einem gebogenen Streifen an der Oberfläche der Strahlenfigur angeordnet. Bald liegen die Schleifen dichter, wie in Figur 12 und 13, bald aber auch ziemlich weit auseinander, so daß sie zuweilen fast einen Halbkreis um die Strahlung beschreiben. Von Spindelfasern konnte ich an diesen Figuren nichts wahrnehmen, glaube aber, daß die Verhältnisse in diesem Falle ebenso sind, wie sie in der vorhergegangenen Abhandlung auf Seite 51 beschrieben worden sind, d. h. es wird auch hier eine Halbspindel vorhanden sein, deren Spitze zum Mittelpunkt der Strahlung, deren Basis zu den Chromatinschleifen reicht. Man könnte dann auch diese Form als Fächerkern bezeichnen.

Aus der einfachen Strahlung scheint später eine Doppelstrahlung zu werden, welche noch zu regulärer Teilung führt. Denn man findet bei dem aus der Kältemischung genommenen und im warmen Zimmer stehenden Material bei jeder späteren Untersuchung noch geraume Zeit Eier, die sich teilen oder nahe vor dem Teilungsakt stehen. Um zu erfahren, wie die Umwandlung geschieht, wäre ein genaueres Studium der Polkörperchen wohl erforderlich. Manche Präparate machten mir den Eindruck, als ob eine Teilung der einfachen Strahlung stattfände, an anderen Eiern wiederum sah ich neben der ersten größeren noch eine zweite sehr kleine Strahlung in geringer Entfernung auftreten (Fig. 17). Zur Klarlegung des Vorgangs müßte eben die Entstehung des zweiten Polkörperchens nachgewiesen werden.

Von demselben Eimaterial, welches die auf den letzten Seiten beschriebenen Präparate geliefert hat, rühren auch die in Figur 15 und 16 abgebildeten Befunde her. Sie sind Beispiele für die größte Veränderung, welche durch die Kältestarre und die Nach-

wirkung derselben veranlaßt worden ist. Aus der Spindel, welche im Ei schon gebildet war zur Zeit, als das Versuchsmaterial in die Kältemischung gebracht wurde, ist hier wieder ein bläschenförmiger Kern mit einem Chromatingerüst geworden. Derselbe ist von der chromatischen Substanz, wie sie in den Figuren 8 und 9 abgebildet wurde, durch Aufnahme von Kernsaft abzuleiten. Ein ähnlicher Vorgang wurde schon früher von uns bei den Versuchen mit stärkeren Chininlösungen beobachtet. Wenn befruchtete Eier, in denen sich der Kern schon zu einer Spindel verwandelt hatte, 20 Minuten in eine 0,05⁰/₀ige Chininlösung eingelegt wurden, so bildete sich die Kernspindel wieder zurück, und anstatt dessen wurde im Dotter nach einiger Zeit wieder ein großer bläschenförmiger Kern vorgefunden, der meist von 4 Strahlungen umgeben war (S. 88) und später in eine komplizierte Teilungsfigur wieder überging. Auch bei dem Eimaterial, welches einer starken Abkühlung ausgesetzt gewesen war, bereitet sich der bläschenförmig gewordene Kern wieder zu neuer Teilung vor, was sich aus der in seiner Umgebung auftauchenden Strahlung schließen läßt. In manchen Eiern ist die Strahlenfigur nur eine einfache (Fig. 15), in andern dagegen eine doppelte (Fig. 16).

Ein dritter Teil der Eier wurde nach der Kältebehandlung noch $1^1/_4$ Stunde lang im warmen Zimmer stehen gelassen. Die Unterschiede in der Entwickelung der einzelnen Eier sind jetzt noch größer als früher geworden. Während eine kleine Anzahl schon in zwei oder selbst in vier Stücke zerfallen ist, zeigen andere eine normale Spindel mit Doppelstrahlung, andere wieder zeigen nur eine einzige große Strahlung, wie schon oben beschrieben wurde, und in ihrer Umgebung mehrere weit auseinander gelegene Chromatinschleifen. Ziemlich häufig endlich finden sich Eier, welche in ihrer Entwickelung weit zurück sind und wie oben einen ovalen blasenförmigen Kern (Fig. 18) mit einem Chromatingerüst und zwei Polstrahlungen besitzen. Der bläschenförmige Kern ist jetzt aber nicht unerheblich größer geworden, als er in den Präparaten war, welche von dem zweiten Teil der Eier angefertigt wurden (Fig. 16).

b) Eier, welche $3^3/_4$ Stunde auf —2⁰ C abgekühlt worden waren.

Infolge der langen Einwirkung der Kälte auf die Eier hatte der Dotter, wie es auch bei längerer Einwirkung anderer Reagentien geschieht, eine grob granulierte Beschaffenheit angenommen. Trotzdem war nach einer halben Stunde, während welcher das

Material im warmen Zimmer gestanden hatte, fast überall wieder eine deutliche Strahlenfigur im Dotter aufgetreten. Nach $^3/_4$ Stunde wurde daher ein Teil der Eier abgetötet. Meist findet man jetzt anstatt der Hantelfigur, die vor der Kältewirkung bestanden hatte, ein kleines Netzwerk von Chromatinfäden, in dessen Umgebung der Dotter wieder ein strahliges Gefüge angenommen hat. Andere Eier enthalten in ähnlicher Weise, wie es für die zweite Partie beschrieben wurde, eine einzige deutliche Strahlung und zerstreut liegende Chromatinschleifen, die in einem Halbring angeordnet sind (Fächerkern); in anderen endlich ist es schon wieder zur Bildung einer normalen Spindel mit scharf ausgeprägter Doppelstrahlung gekommen.

Ein Rest des Materials wurde nach $1^3/_4$ Stunde eingelegt. Bei einer kleinen Anzahl von Eiern ist jetzt regelrechte Zweiteilung eingetreten; bei den meisten finden sich ähnliche verschiedenartige Kernbilder, wie sie oben beschrieben wurden. Auch bläschenförmige Kerne mit zwei Polstrahlungen kommen hier und da vor.

Drittes Kapitel.

Färbung der lebenden Zellsubstanz durch Methylenblau.

Nachdem schon früher durch Brandt [1]) die Färbung von lebendem Protoplasma niederer Organismen durch Bismarckbraun und Hämatoxylin entdeckt worden war, hat vor einigen Jahren Pfeffer[2]) ausgedehnte Untersuchungen über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende pflanzliche Zellen veröffentlicht. Von ihnen ausgehend, stellte ich auch nach dieser Richtung einige Versuche an den Eiern der Echinodermen an, wobei ich mich aber allein auf die Verwendung von Methylenblau beschränkt habe. Es wurde eine Lösung dieser Anilinfarbe in Meerwasser angewandt, welche, auf weißem Grunde betrachtet, einen violetten Schimmer zeigte. Der Prozentgehalt an Farbstoff wurde nicht genauer bestimmt.

1) Brandt, K., Biologisches Centralblatt, Bd. I, 1881, und Monographie der koloniebildenden Radiolarien in Fauna und Flora des Golfs von Neapel, 1885.

2) Pfeffer, W., Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Untersuchungen aus dem botanischen Institut in Tübingen, Bd. II, Leipzig 1886.

Wenn unbefruchtete Eier von Strongylocentrotus lividus in die Methylenblaulösung gebracht wurden, waren einige schon nach einer halben Stunde dunkelviolett, andere mehr oder minder heller gefärbt. Die Eier haben daher eine große Neigung, den Farbstoff aus der dünnen Lösung anzuziehen und in sich aufzuspeichern, so daß sie in sehr kurzer Zeit ein viel intensiveres Kolorit annehmen, als sie die Flüssigkeit besitzt. Bei längerem Verweilen in derselben sehen sie schließlich tief dunkelblau aus: der Farbstoff ist im ganzen Dotter, mit Ausnahme des Zellkerns, der ungefärbt bleibt, gleichmäßig diffus verteilt.

Bei Pflanzen findet die Aufspeicherung im Zellsaft statt, der ganz dunkelblau aussehen kann, während das ihn einschließende und in seinen Lebensfunktionen nicht geschädigte Protoplasma hell bleibt. Eine besonders starke Aufspeicherung in einzelnen Zellkörnchen macht sich an meinem Objekt nicht bemerkbar, wie es von Oscar Schultze [1]) für junge Froschlarven, die in sehr verdünnten, wässerigen Lösungen von Methylenblau Tage lang gezüchtet wurden, beschrieben worden ist. Nach 8 Tagen sind diese tiefblau gefärbt bei ungestörtem Wohlbefinden. Der Farbstoff ist hierbei in einzelnen Körnchen der Zellen (Zellgranula Schultze's, Bioblasten Altmann's) abgelagert.

In meinem Versuch wurden die Eier nach einer halben Stunde in frisches reines Meerwasser übertragen und befruchtet. Bei Zusatz des Samens hob sich sofort bei allen Eiern, selbst bei den ganz intensiv gebläuten, die Dotterhaut weit ab. Trotzdem waren sie durch die Farbstoffspeicherung mehr oder minder geschädigt, denn in die meisten waren viele Samenfäden eingedrungen. Dies wurde besonders später deutlich, als sich im Protoplasma zahlreiche Strahlenfiguren entwickelten.

Der Farbstoff wirkt daher selbst in dünnen Lösungen viel schädlicher auf die Lebensthätigkeit des Eies ein als Morphium, Strychnin und Nikotin. Es hängt dies wohl damit zusammen, daß er selbst aus dünnen Lösungen begierig aufgenommen und aufgespeichert wird und dann in stärkerer Konzentration schädigt.

Um die Eier in normalem Zustand zu erhalten, muß man sie, sowie sie ganz matt violett gefärbt sind, aus der Farbstofflösung nehmen und in frisches Wasser bringen. Dann lassen sie sich zum größten Teil einfach befruchten und entwickeln sich in nor-

---

1) O. Schultze, Die vitale Methylenblaureaktion der Zellgranula. Anatomischer Anzeiger, 1887, p. 684.

maler Weise weiter. Aus einer so behandelten Partie Eier waren am andern Tage Blastulae entstanden, deren Zellen noch das vor der Befruchtung aufgenommene Methylenblau enthielten. Dieses war aber nicht mehr gleichmäßig verteilt; es hatte sich nur in der Basis der Zellen angesammelt, während das flimmerntragende Ende farblos war. Die Höhle der Blastula war daher auf dem optischen Durchschnitt von einem dunkelviolett gefärbten Streifen eingeschlossen. Auch zeigte der die Höhle ausfüllende Gallertkern violette Färbung, und ebenso sind die Wanderzellen, welche auf einem späteren Stadium in die Gallerte eindringen, mit Methylenblau beladen.

Eine zweite Reihe von Versuchen wurde mit Eiern ausgeführt, welche zuerst um 9 Uhr 40 Min. befruchtet und dann nach Ablauf von 20 Minuten, in 4 Portionen geteilt, in 4 verschieden starke Lösungen von Methylenblau auf eine halbe Stunde gebracht wurden. Die stärkste Lösung, die wir mit I bezeichnen wollen, sah hellviolett aus, aus ihr wurden durch doppelte, vierfache und achtfache Verdünnung drei weitere Lösungen (II, III und IV) hergestellt, von denen die dünnste nahezu farblos aussah.

Nach einer halben Stunde wurden die Eier, die in verschiedenem Grade matt blau gefärbt waren, in reines Meerwasser gebracht; sie zeigten in ihrem Innern um den Kern deutliche Strahlung. Auch nahm die Entwickelung ihren weiteren Fortgang, aber in sehr verlangsamter Weise. Während bei frischem Material gewöhnlich nach 2 Stunden die erste Teilung beendet ist, waren hier um 12 Uhr 15 Minuten oder $2^1/_2$ Stunde nach Vornahme der Befruchtung (9 Uhr 40 Min.) noch alle Eier ohne Ausnahme ungeteilt. Als um 3 Uhr die Untersuchung wieder aufgenommen wurde (also nach 5 Stunden 20 Min.), befanden sich jetzt erst die meisten Eier auf dem Zweiteilungsstadium, einige wenige, die besonders hell gefärbt aussahen, waren in 4, 8 oder selbst 16 Stücke zerfallen. Einige waren noch eingeteilt, ließen im Innern auch keine Strahlung erkennen und zeigten sich auch insofern noch besonders geschädigt, als ihre Oberfläche höckerig geworden war.

Am anderen Tage war ein kleiner Teil der Eier zu Blastulae umgewandelt, die aber noch aus großen Zellen zusammengesetzt waren; ein anderer Teil war in eine kleine Anzahl von Furchungskugeln zerfallen; ein Rest hatte sich überhaupt nicht weiter entwickelt.

Die zweite Partie wurde in der Lösung II auch nur eine halbe Stunde belassen, in welchem Zeitraum eine mattviolette

Färbung eingetreten war. Nach Übertragung in frisches Wasser schritt die Entwickelung viel rascher als bei der ersten Partie fort. Schon um 12 Uhr begannen sich einzelne heller gefärbte Eier zu teilen. 15 Minuten später waren die meisten geteilt, wenige noch in Einschnürung begriffen. Bei der um 3 Uhr vorgenommenen Durchmusterung zeigte sich, daß kein Ei unentwickelt geblieben, daß aber die Weiterentwickelung mit einer sehr ungleichen Energie erfolgt war. Während die meisten der mattviolett gefärbten Eier in 16 Stücke zerfallen waren, bestanden einige noch aus 8 oder 4, ja selbst aus 2 Stücken.

Noch größer war die Verschiedenheit um 6 Uhr geworden. Zum Teil fand man jetzt schon großzellige Morulae, zum Teil aber auch Eier, die erst in 4, 8 oder 16 Zellen geteilt waren. Am anderen Tage waren flimmernde Blastulae entstanden, die ebenfalls nur an den dem Gallertkern zugekehrten Enden ihrer Zellen die Methylenblaufärbung besaßen.

In der Lösung III mußten die Eier eine Stunde verweilen, damit eine mattviolette Färbung des Dotters erreicht wurde. Als sie daher erst um 11 Uhr 30 Minuten in frisches Wasser gebracht wurden, waren sie schon in das Hantelstadium eingetreten. Ihre Weiterentwickelung gestaltete sich fast genau so, wie bei der 2. Partie, die in der stärkeren Lösung II nur eine halbe Stunde verweilt hatte. Um 12 Uhr 15 Minuten waren die meisten Eier zweigeteilt und um 3 Uhr in 16 oder 32 Stücke zerfallen, mit wenigen Ausnahmen, die noch auf dem Stadium der 4- oder 8-Teilung standen. Am anderen Tage hatten sich flimmernde Blastulae entwickelt, an denen auch das Methylenblau in der oben angegebenen Weise in den Zellen verteilt war.

In der Lösung IV, an welcher ein Farbstoffzusatz kaum wahrzunehmen war, wurden die Eier ganz belassen. Um 12 Uhr hatten sie eine nur wenig bemerkbare Violettfärbung angenommen und waren schon in 2 Stücke geteilt. Ihre weitere Entwickelung verlief in der Farbflüssigkeit zwar nur ein wenig langsamer als bei gleichzeitig befruchteten Eiern, die zum Vergleich sich in reinem Meerwasser befanden; doch traten auch hier beim Versuchsmaterial einige größere Unterschiede in der Entwickelung hervor, dadurch veranlaßt, daß einzelne Eier mehr Farbstoff in sich aufgespeichert und eine dunkler violette Färbung angenommen hatten als die meisten Eier, die durchschnittlich sehr hell gefärbt blieben. Die ersteren waren erst 4- oder 8-teilig, während letztere schon aus 32 oder 64 Zellen bestanden.

Am anderen Tage, an welchem eine Erneuerung der Farbstoffflüssigkeit auch nicht vorgenommen worden war, hatten sich flimmernde Blastulae entwickelt mit etwas dunklerer Methylenblaufärbung als beim 2. und 3. Versuch. Die Höhle der Flimmerkugel war auf dem optischen Durchschnitt von einem deutlich violett gefärbten Ring umgeben. Nur die Basis der Flimmerzellen war gefärbt. Färbung zeigten auch die in die Gallerte eingewanderten Mesenchymzellen.

Die Ergebnisse aus den mitgeteilten Versuchen lassen sich kurz in folgende Sätze zusammenfassen: Die Eier nehmen aus Lösungen von Methylenblau den Farbstoff begierig in sich auf, bis sie in stärkeren Lösungen in kurzer Zeit, in sehr verdünnten Lösungen nach längerem Verweilen ein tiefblaues Kolorit gewonnen haben. Zwischen Eiern, die sich in derselben Lösung befinden, prägen sich Verschiedenheiten aus, indem einzelne rascher als die anderen den Farbstoff in sich aufspeichern. Je nach dem Grade der Farbstoffspeicherung sind die Eier in ihrer Lebensthätigkeit geschwächt. Während Eier, deren Dotter nur einen violetten Schimmer gewonnen hat, sich nur wenig langsamer als normale Eier bis zur Flimmerkugel entwickeln, wird bei stärkeren Graden der Färbung der Teilungsprozeß entsprechend verlangsamt und bei einem hohen Grad der Farbstoffspeicherung ganz aufgehoben. Gefärbte Eier, in reines Meerwasser übertragen, halten noch längere Zeit mit einer gewissen Energie den Farbstoff fest. Auf dem Blastulastadium häuft sich der Farbstoff an der Basis der Flimmerzellen an.

Viertes Kapitel.

Parthenogenese bei Seesternen.

Im Jahre 1876 veröffentlichte Greeff [1]) die interessante Entdeckung, daß bei Asteracanthion rubens sich einzelne Eier auch ohne Befruchtung auf parthenogenetischem Wege entwickeln können. Nach den Angaben Greeff's war ein Irrtum wohl nicht

1) R. Greeff, Über den Bau und die Entwicklung der Echinodermen. Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg, 1876, Nr. 5.

anzunehmen. Denn erstens war zu der Zeit, als die parthenogenetische Entwickelung beobachtet wurde, die Reife der männlichen Geschlechtsprodukte noch nicht eingetreten; die Samenfäden waren unbeweglich und befruchteten daher auch nicht, wenn sie zu den Eiern hinzugefügt wurden. Zweitens ergab sich ein sehr erheblicher Unterschied in der Entwickelung zwischen parthenogenetischen und zwischen befruchteten Eiern. Denn während bei diesen die erste Furchung schon nach 1—2 Stunden eintrat, erfolgte sie bei jenen erst nach 10—12 Stunden. Aus den sich parthenogenetisch entwickelnden Eiern konnte Greeff bewimperte Gastrulalarven ziehen, welche sich im Wasser lebhaft fortbewegten und mehrere Tage in den Zuchtgläsern am Leben erhalten ließen.

Gleich nach dem Bekanntwerden dieser Entdeckung hoffte ich an dem günstigen Untersuchungsobjekt über die feineren am Kern sich abspielenden Veränderungen bei der Parthenogenese Aufschluß erhalten zu können. Im Dezember 1887 wandte ich daher während eines mehrmonatlichen Aufenthalts in Messina ein besonderes Augenmerk den ersten Entwickelungsprozessen am Ei von Asteracanthion (Asterias glacialis) zu. Wie ich aber schon damals veröffentlicht habe[1]), wollte es mir trotz vielfach variierter Versuche nicht gelingen, Greeff's Angaben bestätigt zu finden. „Ich habe kleine Mengen von Eiern aus reifen Ovarien entleert, in große Gefäße mit frischem Meerwasser gebracht und sich selbst überlassen. Bei anderen Versuchen erneuerte ich das Wasser von Zeit zu Zeit halb oder brachte den Koch'schen Durchlüftungsapparat in Anwendung. In allen Fällen war das Resultat das gleiche. Die Eier entwickelten sich bis zur Bildung des Eikerns. Dieser zeigte nach längerer Zeit Veränderungen, welche wohl als pathologische zu deuten sind. Er vergrößerte sich mehr und mehr und erreichte fast den Umfang des früheren Keimbläschens, dann begannen nach 10—15 Stunden die Eier abzusterben und zu zerfallen. Nur hier und da habe ich zuweilen unter Hunderten von Eiern ein zweigeteiltes angetroffen." Zu demselben negativen Ergebnis ist Fol gelangt.

Trotzdem glaubte ich damals die Frage nach der parthenogenetischen Entwickelung der Seesterneier nicht als erledigt be-

---

1) Oskar Hertwig, Beiträge zur Kenntnis der Bildung, Befruchtung und Teilung des tierischen Eies. Morphologisches Jahrbuch Bd. IV, 1887.

trachten zu dürfen, da keine Gründe vorliegen, eine Fehlerquelle in den Beobachtungen von Greeff vorauszusetzen. Die Untersuchungen in Triest haben mich denn auch jetzt in die Lage gesetzt, zur Frage nach der parthenogenetischen Entwickelung der Seesterneier einige Beiträge zu liefern.

Die zoologische Station versorgte uns mit reichlichem Material von Asterias glacialis und namentlich von Astropecten. Zahlreich geöffnete Tiere enthielten aber stets im März und April, in welchen Monaten nach den Angaben von Greeff die genannten Seesternarten in Triest laichen, noch unreife Geschlechtsprodukte, obwohl ihre Geschlechtsdrüsen meist schon die volle Größe erreicht hatten. Männliche Tiere wurden nur sehr selten gebracht. Ihr Samen war noch unbeweglich. Die Eier hatten die volle Größe erreicht, waren aber noch unreif; denn wenn sie durch Schütteln der freipräparirten Eierstöcke in das Meerwasser entleert wurden, begann das Keimbläschen nicht zu schrumpfen und sich zur Richtungsspindel umzuwandeln; es blieb erhalten, bis daß der Zerfall der Eier eintrat. Nur eine kleine Anzahl von ihnen machte eine Ausnahme und begann zu reifen oder sogar Ansätze zu einer parthenogenetischen Entwickelung zu zeigen. Nachdem die Richtungskörperbildung abgelaufen war, kam es bei ihnen nicht zur Entstehung eines ruhenden Eikerns; anstatt dessen bildeten sich Doppelstrahlungen aus. Nach einiger Zeit veränderten die Eier ihre Form, schnürten sich ein, wenn auch meist in sehr unregelmäßiger Weise, und teilten sich schließlich in eine kleine Anzahl von Embryonalzellen, die sich durch sehr ungleiche Größe und unregelmäßige Form auszeichneten. Der ganze Verlauf der Entwickelung war jedenfalls ein pathologischer. Dies gab sich außer in der ungleichen Größe der Zellen auch noch darin kund, daß sich neben ihnen einzelne größere und kleinere kernlose Dotterkugeln durch Abschnürung gebildet hatten.

Ab und zu wurde in den Zuchtgläsern indessen auch ein Ei vorgefunden, das sich bis zum Blastulastadium entwickelt hatte und ein ziemlich normales Aussehen darbot. Von einer aus einem befruchteten Ei entstandenen Blastula ließ sich diese aber sofort dadurch unterscheiden, daß sie nicht von einer Dotterhaut, die erst infolge der Befruchtung gebildet wird, umschlossen war.

Was für Vorgänge spielen sich nun im Innern der Eier ab, bei welchen es zu einer Entwickelung ohne Befruchtung gekommen war? Die genaue Prüfung dieser Frage schien mir noch besonders wünschenswert im Hinblick auf die jüngsten wichtigen Beobach-

tungen von Weismann und Ischikawa, von Blochmann und von Boveri [1]).

Weismann und Ischikawa konnten feststellen, daß bei allen Sommereiern von Daphniden, Ostracoden und Rotatorien, welche sich parthenogenetisch entwickeln, regelmäßig nur ein Richtungskörper hervorknospt, während im ganzen Tierreich die normale Zahl derselben sich auf 2 bis 3 beläuft. Ebenso fand Blochmann bei den parthenogenetischen Sommereiern von Blattläusen nur einen Richtungskörper, ihrer zwei dagegen bei den befruchtungsbedürftigen Wintereiern. Bei der Parthenogenese soll aus der im Ei zurückbleibenden Hälfte der ersten Richtungsspindel gleich der Furchungskern hervorgehen, der, ohne eine Befruchtung erfahren zu haben, sich zur Teilung anschickt. Nach Beobachtungen von Boveri wird nur ein einziger Richtungskörper zuweilen auch bei Nematoden gebildet. Boveri knüpft hieran die Vermutung, daß bei den parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern vielleicht zwei aufeinanderfolgende Teilungen eingeleitet werden, aber nur die eine wirklich zustande kommt, die andere dagegen, und zwar wohl sicher die zweite, sich im wesentlichen auf die Teilung der chromatischen Elemente beschränkt. „Vielleicht entsteht, wenigstens in manchen Fällen, noch eine zweite Richtungsspindel mit Tochterplatten, die dann in den Ruhestand zurückkehrt, oder es erfolgt nur einfach noch eine Teilung der Elemente. Es wäre dann die parthenogenetische Entwickelung nicht so aufzufassen, daß die Bildung des zweiten Richtungskörpers unterbliebe, sondern eher so, daß dieser zwar entsteht, aber im Ei zurückgehalten wird und nun sein Kern mit dem Eikern verschmilzt. Der zweite Richtungskörper würde so gewissermaßen die Rolle des Spermatozoons übernehmen, und man könnte nicht ohne Berechtigung den Satz aussprechen: Die Parthenogenese beruht auf einer Befruchtung durch den zweiten Richtungskörper.“

Die Eier der Seesterne, da sie einen Ansatz zu einer parthenogenetischen Entwickelung darboten, schienen mir bei ihrer vollkommenen Durchsichtigkeit ein schätzbares Untersuchungsmaterial zu sein. Schon bei genauerer Betrachtung derselben im

---

1) Blochmann, Über die Richtungskörper bei Insekteneiern. Morph. Jahrb. Bd. XII u. a. Arbeiten. — Weismann, Über die Zahl der Richtungskörper und über ihre Bedeutung für die Vererbung, Jena 1887. — Weismann und Ischikawa, Über die Bildung der Richtungskörper bei tierischen Eiern. — Boveri, Zellstudien, Heft I, 1887.

lebenden Zustand fiel mir auf, daß viele Eier, welche das Keimbläschen verloren hatten und schon viele Stunden sich im Meerwasser befanden, nur einen einzigen Richtungskörper enthielten und daß bei ihnen im Innern des Dotters häufig zwei nahe beisammen oder etwas auseinander gelegene Kernbläschen oder eine in Teilung begriffene Kernspindel zu sehen waren. Zu genauerer Untersuchung wurde Material zu verschiedenen Zeiten in Prikrinessigsäure eingelegt, zwei, fünf und sieben Stunden, nachdem die Eier aus dem Ovarium in das Meerwasser entleert worden waren. Nach Färbung in Boraxkarmin ließen Balsampräparate auch die feineren Kernveränderungen erkennen.

Bei dem nach zwei Stunden eingelegten Material beobachtete ich mehrfach im Dotter nahe an der Oberfläche des Eies eine vollkommen ausgebildete Richtungsspindel und zwei deutlich entwickelte Plasmastrahlungen an ihren beiden Enden (Taf. III, Fig. 1). Die färbbaren Schleifen von Kernsubstanz waren schon in zwei Gruppen nahe den beiden Polen in nicht sehr regelmäßiger Weise angeordnet. Zuweilen lagen ein oder zwei Klümpchen von Kernsubstanz (x) in der Mitte der Spindel, zu deren Bildung sie keine Verwendung gefunden haben, wie ich schon früher für mehrere Objekte beschrieben habe (Asterias, Haemopis, Mytilus). In einem Fall fand sich noch eine isolierte dritte Strahlung in der Nähe der Richtungsspindel, welche mit ihrem einen Pol an die Oberfläche des Eies reichte.

Bei der zweiten Portion, welche nach fünf Stunden abgetötet wurde, war ein Richtungskörper entstanden, in dessen Plasma eine Gruppe von Chromatinkörnchen hervortrat (Taf. III, Fig. 2—6). Die im Ei verbliebenen Kernteile boten verschiedene Befunde dar.

Einige Eier zeigten unter der Bildungsstelle des ersten Richtungskörpers eine zweite Spindel mit zwei Strahlungen (Fig. 4).

Andere Eier, die auf einem etwas weiter vorgerückten Entwickelungsstadium sich befinden müssen, scheinen mir von besonderem Interesse zu sein, da aus den inneren Veränderungen sich schließen läßt, daß bei ihnen ein zweiter Richtungskörper nicht mehr zur Anlage kommen kann. Die hierher gehörigen Befunde boten einige Verschiedenheiten dar. Einzelne Eier (Fig. 3 u. 5) enthielten unter dem ersten Richtungskörper ein kleines, mit Chromatinkörnchen versehenes Kernbläschen, an dessen einer Seite nach der Dotterrinde zu eine Plasmastrahlung zu sehen war. Nur wenig nach dem Innern des Eies von ihm ent-

fernt, befand sich ein zweites Kernbläschen (Fig. 3) oder eine kleine Gruppe von solchen (Fig. 5), welche untereinander zu verschmelzen im Begriffe waren. Auch dieser zweite Kern war nach der dem Eicentrum zugekehrten Seite von einer Strahlung umgeben.

Bei anderen Eiern beobachtete ich unter dem ersten Richtungskörper eine Gruppe von mehreren Kernbläschen, welche von zwei Plasmastrahlungen an entgegengesetzten Seiten eingeschlossen waren (Fig. 2). Auch das kam vor, daß unter dem einzigen Richtungskörper in einer ausgeprägten Strahlung eine Anzahl Kernbläschen eingeschlossen war (Fig. 6), und daß sich in einiger Entfernung davon noch eine zweite Strahlung vorfand, in deren Umgebung jede Spur von Chromosomen oder sonstigen Kernteilen fehlte.

In anderen Fällen wieder hatten die Kernteile ihre ursprüngliche Lage unter dem ersten Richtungskörper verändert und waren tiefer nach der Mitte des Eies zu vorgerückt; hier fand sich entweder eine Gruppe von Bläschen, umgeben von deutlich ausgeprägter Plasmastrahlung oder ein undeutlich konturierter, bläschenförmiger, etwas ovaler Kern mit zwei Strahlungen an seinen beiden Polen, oder es fanden sich zwei nahe zusammengelegene, von Strahlung umgebene, bläschenförmige Kerne.

Wenn wir nach der Bedeutung dieser Befunde fragen, so lassen sich dieselben wohl in der Weise interpretieren, daß nach der Abschnürung des ersten Richtungskörpers in den oben beschriebenen Fällen zwar in der Regel noch eine zweite Richtungsspindel entstanden sein wird, aber nicht Veranlassung für einen zweiten Knospungsprozeß geworden ist. Anstatt dessen ist es nur zu einer Kernteilung im Innern des Eies gekommen. Es haben sich die Chromatinschleifen der zweiten Richtungsspindel in zwei Gruppen gesondert. Von diesen leiten sich die beiden bläschenförmigen Kerne her, welche unter der Austrittsstelle des ersten Richtungskörpers von Strahlung umgeben mehrfach beobachtet wurden (Fig. 3 u. 5).

In einigen Fällen scheint nach der Abschnürung des ersten Richtungskörpers aus den im Ei verbliebenen Kernteilen gleich ein Haufen von Kernbläschen oder ein bläschenförmiger Kern, an welchem sich zwei Strahlungen ausbilden, hervorgegangen zu sein (Fig. 2).

Als eine pathologische Erscheinung endlich betrachte ich das

Auftreten der oben erwähnten isolierten Plasmastrahlung (Fig. 6), welche keine chromatischen Kernteile einschließt.

Aus den mitgeteilten Befunden lassen sich nun leicht die Bilder herleiten, welche sowohl im frischen Zustand als an der dritten Portion der konservierten Eier (nach 7 Stunden eingelegt) wahrgenommen wurden. Häufig fand sich an der Oberfläche nur ein einziger Richtungskörper, im Centrum des Eies aber waren dicht bei einander zwei Kerne (Fig. 7) anzutreffen wie bei einem befruchteten Ei. Diese stammen offenbar von den zwei Kernen ab, die unter der Bildungsstelle des ersten Richtungskörpers aus der zweiten Richtungsspindel entstanden und dann von der Oberfläche weiter weggerückt sind. Aus ihrer Verschmelzung geht ein Kern hervor, der nicht wie der Eikern im Ruhezustand verharrt, sondern sich bald zu Teilungsprozessen anschickt.

Die Teilungen waren bei den von mir untersuchten Objekten sehr unregelmäßige und pathologische, bei dem von Greeff beobachteten Material scheinen sie sich dagegen in normaler Weise vollzogen und bis zur Entstehung normaler Blastulae geführt zu haben.

Abgesehen von den Eiern, welche den Ansatz zu einer parthenogenetischen Entwickelung erkennen ließen, waren in dem Triester Material auch Eier anzutreffen, die nach Rückbildung des Keimbläschens zwei Richtungskörper und im Dotter einen bläschenförmigen Eikern ohne Strahlung besaßen. Bei ihnen ist also eine normale Eireife eingetreten und scheint jetzt eine Weiterentwickelung ohne Befruchtung nicht mehr möglich zu sein.

Ich behalte mir vor, auf eine theoretische Würdigung dieser Verhältnisse bei anderer Gelegenheit zurückzukommen.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Die Figuren 1—6 und 9—28 sind bei Ölimmersion $^1/_{18}$ Zeiss, Oc. III mit dem Abbe'schen Zeichenprisma gezeichnet. Fig. 7 und 8 bei Zeiss D, Oc. 3.

Fig. 1. Samenkern aus einem pathologischen Ei von Echinus microtuberculatus, 30 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 2. Nebeneinander liegender Eikern und Samenkern aus einem pathologischen Ei von E. microtuberc., 30 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 3—6. Samenkerne aus pathologischen Eiern von E. microtub., 1 Stunde 40 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 3. Zu verschiedenen Zeiten eingedrungene Samenkerne, *a* Samenkern zu einem kleinen Bläschen umgebildet, *b* größere Samenkernbläschen mit 2 Strahlungen, *c* ein Samenkern ist mit dem Eikern verschmolzen, ein zweiter Samenkern *d* liegt ihm unmittelbar an.

Fig. 4. Ein größerer bläschenförmiger Samenkern mit zwei Strahlungen.

Fig. 5. Zu großen Blasen umgewandelte Samenkerne, von denen der größere erkennen läßt, daß er aus Verschmelzung zweier Bläschen entstanden ist.

Fig. 6. Drei in einem Streifen zusammengelegene, bläschenförmige Samenkerne, von denen zwei untereinander zu verschmelzen beginnen.

Fig. 7—8. Zwei pathologische Eier von Echinus microtub., 4 Stunden 20 Minuten nach der Befruchtung bei Zeiss D, Oc. 3 gezeichnet. Das eine Ei zeigt in der Eirinde verteilte Spindeln, das andere mehrere bläschenförmige Kerne, um welche sich der Dotter in Ballen abzuschnüren beginnt.

Fig. 9—12. Kernfiguren aus pathologischen Eiern von Echinus microtub., 4 Stunden 20 Min. nach der Befruchtung, bei Ölimmersion $^1/_{18}$, Zeiss Oc. III gezeichnet.

Fig. 9. Gruppe von Samenkernen, die zum Teil wohl durch Verschmelzung zu außerordentlich großen Blasen umgebildet sind.

Fig. 10. Eine einzelne außerordentlich große Kernblase mit Nucleolen.

Fig. 11 und 12. Komplizierte Kernteilungsfiguren, die aus Kernhaufen hervorgegangen sind.

Fig. 13. Eier von Strongylocentrotus lividus, 15 Minuten in Meerwasser von — 2 bis — 3° C abgekühlt und dann befruchtet, 15 Minuten nach der Befruchtung abgetötet.

Fig. 14 und 15. Eier von Strongylocentr. liv., 30 Minuten in Meerwasser von — 2 bis — 3° C abgekühlt und dann befruchtet, 25 Minuten nach der Befruchtung abgetötet.

Fig. 15 zeigt einen Empfängnishügel bei Ansicht von oben.

Fig. 16—20. Eier von Strongylocentr. liv., 5 Minuten nach der Befruchtung in Meerwasser von — 3° C, 1 Stunde 30 Minuten abgekühlt.

Fig. 16—17 zeigen den Empfängnishügel und Samenkern von Eiern, die 10 Minuten nach der Herausnahme aus der Kältemischung abgetötet wurden.

Fig. 18—20 zeigen Empfängnishügel, Ei- und Samenkern von Eiern, welche erst 40 Minuten nach der Herausnahme aus der Kältemischung in Pikrinessigsäure eingelegt wurden.

Fig. 21—25. Samenkerne von Eiern von Strongylocentr. lividus, welche eine Stunde in Meerwasser von — 3° C abgekühlt, dann befruchtet und nach weiteren 50 Minuten abgetötet wurden.

Fig. 26—28. Samenkerne von Eiern von Strongylocentr. lividus, welche 2 Stunden in Meerwasser von — 3° C abgekühlt, dann befruchtet und nach Ablauf einer Stunde abgetödtet wurden.

Tafel II.

Fig. 1. Furchungskern von einem Ei von Strongylocentrotus, welches 40 Minuten nach der Befruchtung, 15 Minuten auf — 3° C abgekühlt und dann getötet wurde (Pikrinessigsäure).

Fig. 2. Ei- und Samenkern aus einem ebenso behandelten Ei.

Fig. 3 und 4. Kernfiguren von Eiern, die 80 Minuten nach der Befruchtung auf — 3° C 15 Minuten lang abgekühlt und dann abgetötet wurden.

Fig. 5—7. Kernfiguren von Eiern, die 105 Minuten nach der Befruchtung in eine Kältemischung von — 3° C gebracht und dann in Pikrinessigsäure konserviert wurden.

Fig. 8. Zustand der chromatischen Substanz von Eiern, welche 1 Stunde 40 Minuten nach der Befruchtung, als sie sich auf dem

Hantelstadium befanden, 2 Stunden 15 Minuten in eine Kältemischnng von —2 ⁰ C gebracht und dann abgetötet wurden.

Fig. 9. Ganze Kernfigur von einem in derselben Weise behandelten Ei.

Fig. 10—17. Kernfiguren von Eiern, welche 1 Stunde 40 Minuten nach der Befruchtung in eine Kältemischung von —2⁰ C 2 Stunden 15 Minuten gebracht und 45 Minuten nach Herausnahme aus der Kältemischung abgetödtet wurden.

Fig. 18. Kernfigur eines Eies, welches wie vorher behandelt, aber erst 1 Stunde 15 Minuten nach Herausnahme aus der Kältemischung abgetötet wurde.

Fig. 19. Kopie einer Abbildung aus einer Arbeit von Dr. Schottländer: Über Kern- und Zellteilungsvorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut. Sechsteiliger Mutterstern mit verschiedener Spindelrichtung in Polansicht. Halbschematisch, Tafel XXII, Fig. 19.

Fig. 20. Kopie aus demselben Werk, Tafel XXII, Fig. 17. Flächenansicht eines dreiteiligen Muttersterns.

Tafel III.

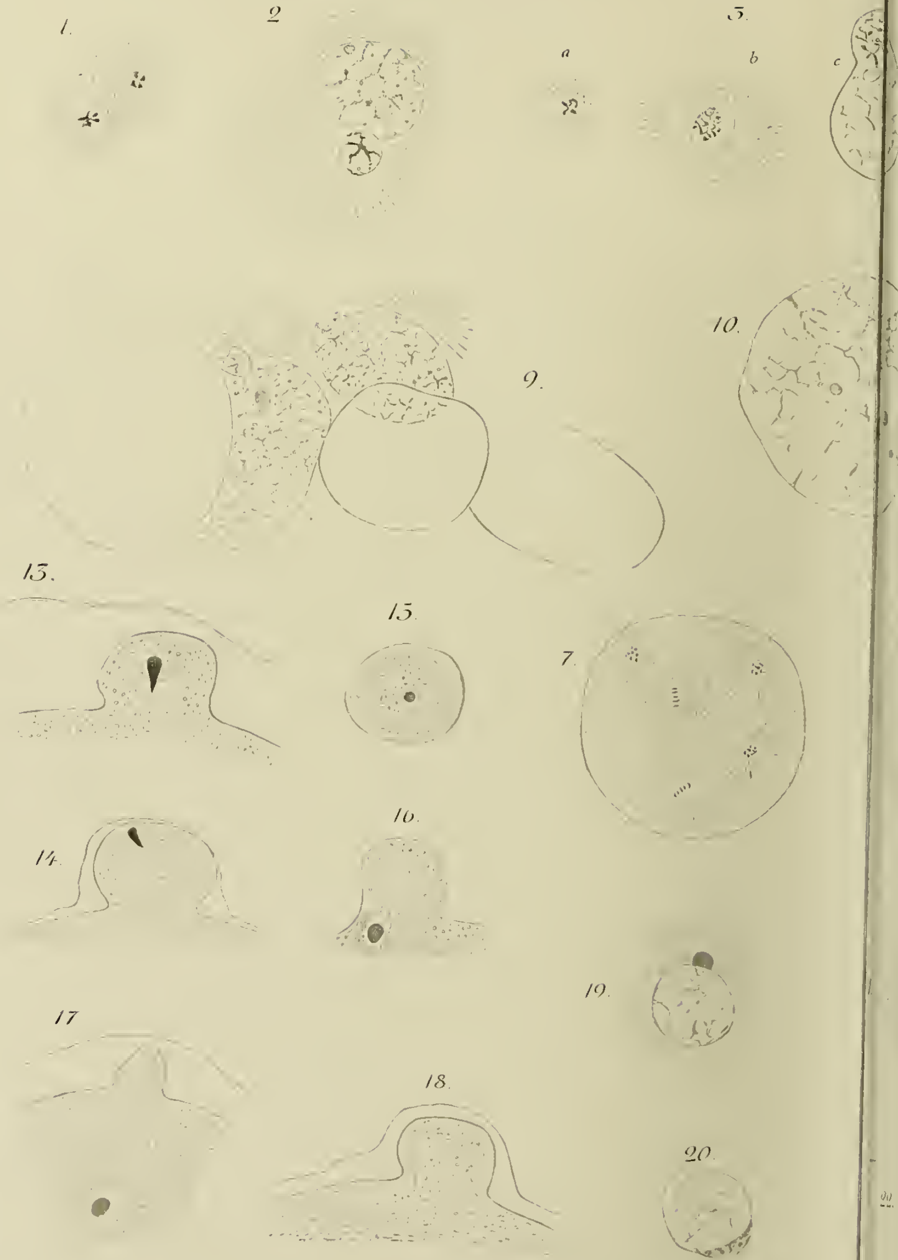
Präparate von Eiern von Astropecten, die am 13. April in Meerwasser entleert und zu verschiedenen Zeiten in Pikrinessigsäure eingelegt wurden. Gezeichnet bei Zeiss Immersion J, Oc. 3.

Fig. 1. Richtungsspindel von einem Ei 2 Stunden nach der Entleerung aus dem Ovarium.

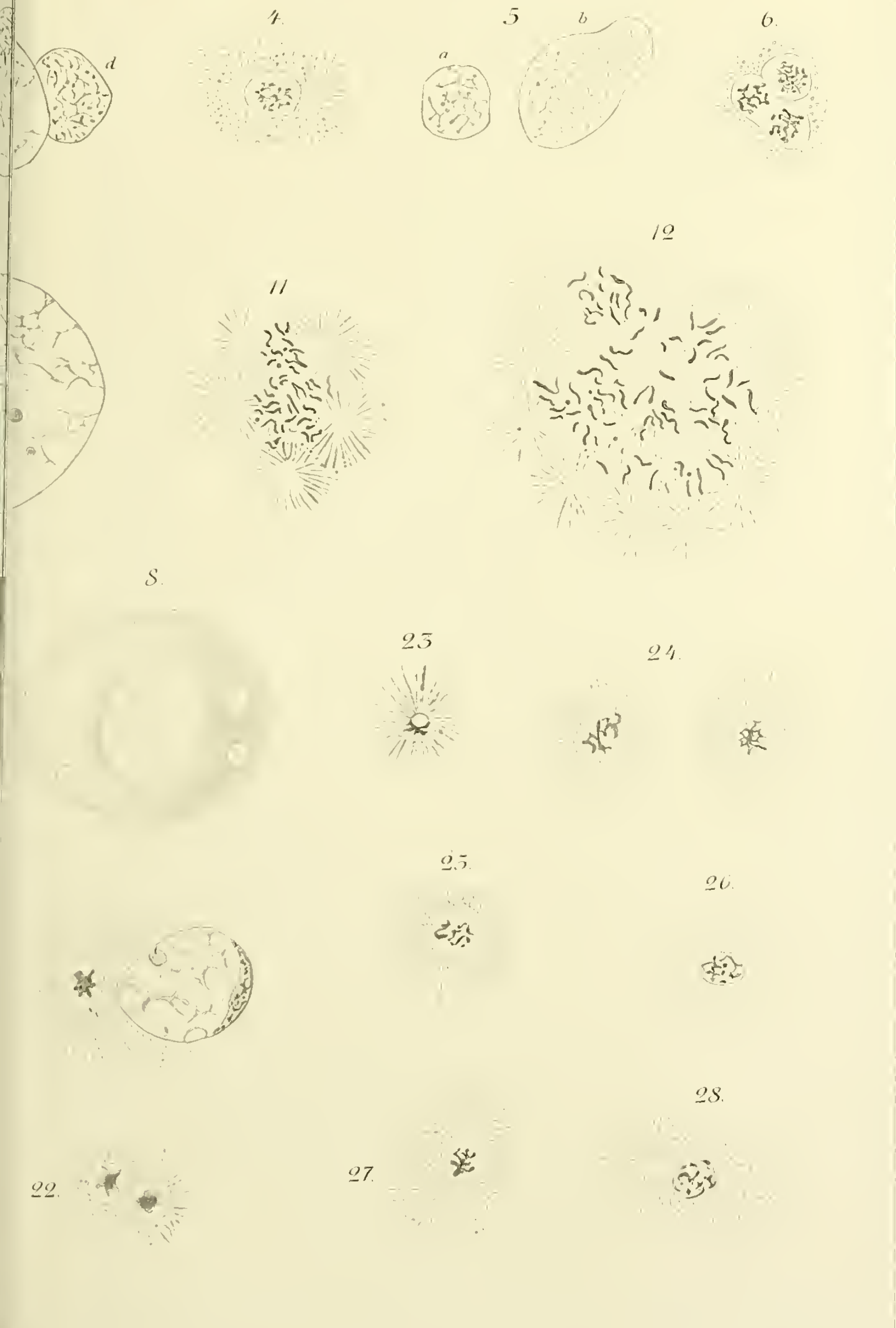
Fig. 2—6. Eier mit einem Richtungskörper, 5 Stunden nach der Entleerung aus dem Ovarium.

Fig. 7. Zwei von Strahlung umgebene bläschenförmige Kerne aus der Mitte eines Eies, welches 7 Stunden nach seiner Entleerung aus dem Ovarium nur einen Richtungskörper besaß.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

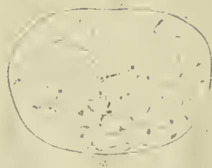


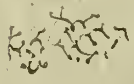
1.
2
3.
a
b
c
10.
9.
13.
15.
7.
14.
16.
19.
17
18.
20.



...ischer Jena.
Lith Anst v. A. ...tsch Jena


1.


3.


4.


2.


8.
a
d


b

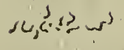

c


e


9.






10.

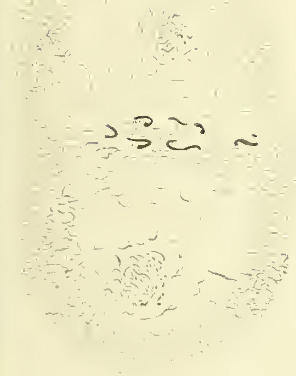

14


16.


17.


15.

5.



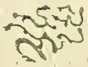
6.



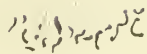
7.



11.



12.



13.



18.



19.



20.



...her Jena

Lith. Anst. v. A. Giltsch, Jena.


1
2.
x
3.
4.
5.
6.
7.

Untersuchungen

zur

Morphologie und Physiologie der Zelle

von

Dr. Oscar Hertwig, o. Professor der Anatomie an der Universität Berlin,

und

Dr. Richard Hertwig, o. Professor der Zoologie an der Universität München.

Heft 6.

Experimentelle Studien am tierischen Ei

vor, während und nach der Befruchtung.

Erster Teil.

Von

Dr. Oscar Hertwig,
o. Professor der Anatomie an der Universität Berlin.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1890.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.